(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.[6]
C07D 487/22

(45) 공고일자 2003년12월01일
(11) 등록번호 10-0388159
(24) 등록일자 2003년06월05일

| | | | |
|---|---|---|---|
| (21) 출원번호 | 10-1997-0707709 | (65) 공개번호 | 특1999-0008184 |
| (22) 출원일자 | 1997년10월30일 | (43) 공개일자 | 1999년01월25일 |
| 번역문제출일자 | 1997년10월30일 | | |
| (86) 국제출원번호 | PCT/JP1996/01512 | (87) 국제공개번호 | WO 1996/41806 |
| (86) 국제출원일자 | 1996년06월05일 | (87) 국제공개일자 | 1996년12월27일 |
| (81) 지정국 | 국내특허 : 아일랜드 알바니아 오스트레일리아 바베이도스 불가리아 브라질 캐나다 중국 체코 에스토니아 그루지야 헝가리 아이슬란드 대한민국 스리랑카 라이베리아 리투아니아 라트비아 마다가스카르 마케도니아 몽고 멕시코 AP ARIPO특허 : 케냐 레소토 말라위 수단 스와질랜드<br>EA 유라시아특허 : 아르메니아 아제르바이잔 벨라루스 키르기즈 카자흐스탄 몰도바<br>EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 독일 덴마크 스페인 프랑스 영국 그리스 이탈리아 룩셈부르크 모나코 네덜란드 포르투칼 스웨덴 | | |
| (30) 우선권주장 | 7-141819 1995년06월08일 일본(JP) | | |

(73) 특허권자 교린 세이야꾸 가부시키 가이샤
일본국 도쿄도 지요다쿠 간다 스루가다이 2쵸메 5반치
(72) 발명자 아사히나 요시카즈
일본국 도치기켄 시모츠가군 노기마치 도모누마 5905-301
오모리 야스오
일본국 도치기켄 시모츠가군 노기마치 도모누마 6095
(74) 대리인 김양오, 송재련, 한규환

*심사관 : 강춘원*

# (54) 수용성신규플루오로에틸캠프토테신유도체및그의제조방법

## *명세서*

### *기술분야*

<1> 본 발명은 항종양 작용을 가지는 신규화합물 및 그의 제조 방법에 관한 것이다.

### *배경기술*

<2> 캠프토테신은 캠프토테카 에쿠미나타에서 단리된 알카로이드(Wall등, J. Am. Chem. Soc., 88, 3888-3890(1966).)로서, 핵산 합성을 저해하는 것에 의해 항종양 활성을 나타내는 것으로 알려져 있다(Lown등, Biochem, Pharmacol., 29, 905-915 (1989)). 그러나 미국에서 행하여진 임상시험 결과, 독성면에서 문제가 있어 의약품으로서의 개발이 중지되었다. 그후 독성의 경감이나 활성의 증강을 목적으로 한 유도체의 연구가 진행되고 있으나, 현재도 강한 독성의 문제는 해결하지 못하고 있다. 예를 들어, 캠프토테신 유도체중에서 정맥내 투여가 가능한 항종양제로서 가장 개발이 진행되어 있는 염산 이리노테칸(Sawada등, Chem. Pharm. Bull., 39, 1446-1454(1991))에서도, 골수 억제 등의 부작용 외에 물에 가용화시키기 위하여 도입한 프로드럭 부분의 카르바모일구조에 의하여 콜린 에스테라제 저해작용이 발현하여 이것에 기인한다고 생각되는 소화관 장해가 문제로 되어 있다(가와도 등, 기초와 임상 24, 229-234 (1990)).

<3> 또 수용성 캠프토테신 유도체로서 최근 보고된 10, 11-메틸렌디옥시-20-O-글리실캠프토테신(Wall 등, J. Med. Chem., 36, 2689(1993))은 본 발명 화합물과 유사한 구조를 가지나, 고형 종양에 대한 항종양 효과는 보고되어 있지 않고, 또 독성도 강하다.

<4> 또한, 캠프토테신 유도체의 대부분은 수난용성이기 때문에 임상에서 가장 일반적인 투여 방법인 정맥내 투여가 곤란하며, 의약품으로서 개발하는 데 커다란 문제이다. 예를 들어, 캠프토테신 유도체의 20위치 에틸기를 2-플루오로에틸기로 변환한 플루오로에틸캠프토테신 유도체(일본국 특개평 5-17479호)와 같이 강한 항종양 활성을 유지한 채 독성이 경감된 화합물도 존재하나, 그 화합물도 물에 잘 녹지않아 주사제로서의 개발은 곤란하다.

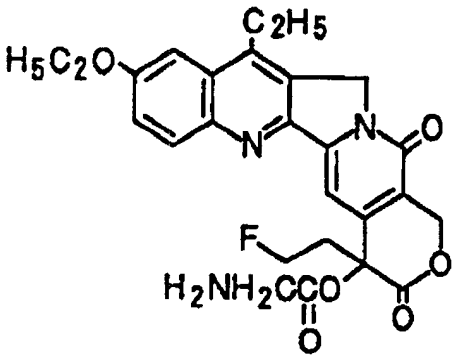
### *발명의 상세한 설명*

<5> 이와 같은 배경에서 본 발명자들은 강한 항종양 활성을 가지고, 종래의 캠프토테신 유도체에 비

하여 저독성이며 수용성인 플루오로에틸캠프토테신 유도체에 관하여 예의 연구를 행하였다. 그 결과, 10-에톡시-7-에틸-18-플루오로캠프토테신의 20위치 히드록시의 글리시딜에스테르가 종래의 캠프토테신 유도체를 능가하는 우수한 항종양 활성과 높은 안전성 및 정맥내 투여가 가능한 수용성을 가진 것을 발견하고, 본 발명을 완성하였다.

<6> 따라서 본 발명의 목적은 하기의 화학식 1

<7> [화학식 1]



<9> 로 표시되는 화합물 및 그의 염을 제공하는 데 있다.

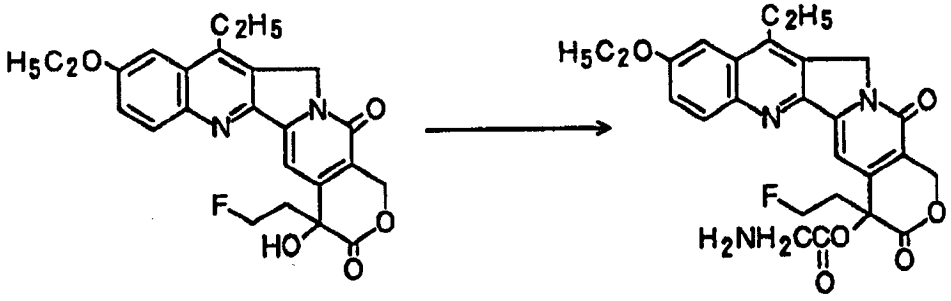
<10> 본 발명 화합물은 예를 들어 다음 반응식 1에 예시하는 방법에 의하여 제조할 수 있다.

<11> 즉, 디클로로메탄, 클로로포름 등의 할로겐화 탄화수소; 테트라히드로푸란, 디옥산, 에틸렌글리콜디메틸에테르 등의 에테르류; 벤젠, 톨루엔 등의 방향족 탄화수소; N, N-디메틸포름아미드, N, N-디메틸아세트아미드 등의 아미드류; 아세토니트릴; 또는 에틸 아세테이트 등의 용매중에서, 필요한 경우, N, N'-디시클로헥실카르보디이미드, 1-에틸-3-(3-디메틸프로필)카르보디이미드 염산염, 카르보디이미다졸 등의 축합제를 사용하여, 트리에틸아민, 디이소프로필아민, 피리딘, 4-(N, N-디메틸아미노)피리딘, 1,8-디아자비시클로-7-운데센 등 아민의 존재하에, 화학식 2의 화합물에 질소를 보호한 글리신 유도체를 반응시킨 후, 산, 염기, 또는 촉매 환원에 의하여 탈보호하여, 화학식 1로 표시되는 화합물을 제조할 수 있다. 반응은 통상 -78℃～ 120℃, 바람직하게는 0℃～120℃에서 10분간-48시간, 바람직하게는 30분간～24시간으로 행하여진다.

<12> 염을 형성시키기 위하여 사용할 수 있는 산으로서는 생리학적으로 허용되어 있는 것이면 특별히 한정되지 않으나, 염산, 황산, 인산 등의 무기산, 포름산, 아세트산 등의 유기산을 들 수 있다. 또, 이들 산을 물, 메탄올, 에탄올, 2-프로판올 등의 알콜, 테트라히드로푸란, 디옥산, 에틸렌글리콜디메틸에테르 등의 에테르류, 아세토니트릴 또는 에틸 아세테이트 등을 용매로 사용하여 아미노산의 탈보호를 행하여, 직접 화학식 1로 표시되는 화합물의 염을 제조할 수 있다. 반응은 통상 -78℃～120℃, 바람직하게는 0℃～120℃에서 10분간～48시간, 바람직하게는 30분간～24시간으로 행하여진다.

<13> [반응식 1]

화학식 2 화학식 1



<15> 하기 실험예에 의하여 본 발명의 효과를 설명한다.

<16> 실험예 1

<17> $5\times10^6$개의 사르코마 180 세포를 5주된 ICR 암쥐의 겨드랑이부의 피하에 이식하고 이식 다음날부터 4일간격으로 3회, 꼬리정맥으로 약물을 투여하였다. 이식 후 14일째 적출한 종양의 중량을 측정하고 약물투여군의 평균 종양 중량(T)과 대조군의 평균 종양 중량(C)의 비(T/C)에서 얻어진 종양 증식억제율(TGI=(1-T/C)×100)을 항종양 효과로 하였다. 결과를 표 1에 나타낸다.

<18> 실험예 2

<19> $1\times10^6$개의 쥐결장암 colon26 세포를 9주된 CDF-1 암쥐의 겨드랑이부의 피하에 이식하고, 종양이 촉지에 의하여 확인된 이식 6일후부터 4일간격으로 3회, 꼬리정맥으로 약물을 투여하였다. 이식후 17일～19일째 적출한 종양의 중량을 측정하고, 약물투여군의 평균 종양중량(T)과 대조군의 평균 종양중량(C)의

비(T/C)로 얻어진 종양 증식억제율(TGI=(1-T/C)×100)을 효과로 하였다. 결과를 표 2에 나타낸다.

<20> 실험예 3

<21> Ellman 등의 방법(Biochem.Pharmacol.,7,88-95(1961))에 따라 아세틸콜린에 스테라제가 요드화 아세틸티오콜린을 기질로 하였을 때 생성하는 티오콜린이 디티오비스니트로벤조산(DTNB)과 결합하여 발색하는 반응을 이용하여, 아세틸콜린에스테라제반응의 저해를 측정하였다. 즉, 2.6ml의 0.1M나트륨-인산완충액(pH=8.0)에 0.1ml의 10mM DTNB용액, 0.1ml의 효소액 또는 물 및 0.1ml의 저해제 용액을 가하여 25℃에서 15분간 보온하고, 0.1ml의 요드화 아세틸티오콜린을 가하여 412nm에서 흡광도를 측정하였다. 반응속도와 요드화 아세틸티오콜린의 농도를 라인위버-버크 플롯하여 $V_{max}$, $K_m$을 구하고, 다시 저해제의 농도로부터 저해정수(Ki)를 산출하였다.결과를 표 3에 나타낸다.

<22> [표 1]

<23> 쥐 사르코마 180종양에 대한 효과

| 총투여량(mg/kg) | TGI(%) | |
|---|---|---|
| | 실시예 1 | 염산 이리노테칸 |
| 30 | - | 44 |
| 60 | 83 | 75 |
| 120 | 91 | 74 |

<25> [표 2]

<26> 쥐 결장암 26종양에 대한 효과

| 총투여량(mg/kg) | TGI(%) | | |
|---|---|---|---|
| | 실시예 1 | 염산 이리노테칸 | 화합물 1* |
| 7.5 | - | - | 21 |
| 15 | - | - | 22 |
| 30 | 28 | 8 | 44 |
| 60 | 59 | 28 | (독성) |
| 120 | 81 | 34(독성) | - |
| 180 | 82 | - | - |

* 10,11-메틸렌디옥시-20-O-글리실캠프토테신 염산염

<28> [표 3]

<29> 아세틸콜린에스테라제 저해작용의 비교

| | Ki치 | 상대비 |
|---|---|---|
| 염산이리노테칸 | 0.1 ~ 0.17μ M | 1 |
| 실시예 1 | 20 ~ 40μ M | 1/100 ~ 1/300 |

<31> 표 1에 나타낸 바와 같이 본 발명 화합물은 항종양 효과를 검토하는 데 일반적인 고형 종양인 쥐의 사르코마 180종양에 대하여 정맥내 투여로 염산이리노테칸을 상회하는 종양 증식 억제효과를 나타내었다.

<32> 또한 놀랄만한 것은 표 2에 나타낸 바와 같이 염산 이리노테칸이나 본 발명화합물과 유사한 구조를 가지는 10, 11-메틸렌디옥시-20-O-글리실캠프토테신염산염이 전혀 효과를 나타내지 않는 쥐의 진전된 결장암 26종양에 대해서도 정맥내 투여로 명확한 종양 증식억제 효과를 나타내고, 본 발명 화합물이 종래의 캠프토테신 유도체를 능가하는 항종양 활성을 가지는 것이 증명되었다.

<33> 또한, 본 발명 화합물은 총투여량 180mg/kg에서도 독성을 발현하지 않고, 불과 20mg/kg의 투여로 독성을 발현하는 10, 11-메틸렌디옥시-20-O-글리실캠프토테신 염산염은 물론, 염산이리노테칸을 상회하는 안전성을 나타내었다.

<34> 또한, 표 3에 나타낸 바와 같이 염산 이리노테칸에 비하여 콜린에스테라제의 저해작용이 현저하게 약하고, 설사 등의 소화관 장해가 발현할 가능성이 낮다. 또 아미노산의 프로드럭이기 때문에 생체내에서 모화합물로 복귀한 후의 프로드럭부분에 의한 독성을 염려할 필요가 없다.

<35> 또한 본 발명 화합물은 정맥내 투여를 행하는 데 필요한 물에 대한 용해도를 가지고 있다.

<36> 이와 같이 본 발명 화합물은 항종양 활성이 우수하고, 또 안전성이 높으며, 수용성이고, 항종양제로서 유용하다.

<37> 다음에 실시예 및 참고예를 들어 본 발명을 더욱 상세하게 설명한다.

## 실시예

<38> 실시예 1

<39> 4-[(아미노메틸카르보닐)옥시]-9-에톡시-11-에틸-4-(2-플루오로에틸)-1H-피라노[3', 4' : 6, 7]

인돌리디노[1, 2-b]퀴놀린-3, 14(4H, 12H) -디온 염산염의 합성

<40> 9-에톡시-11-에틸-4-(2-플루오로에틸)-4-히드록시-1H-피라노[3', 4' : 6, 7]인돌리디노[1, 2-b]퀴놀린-3, 14(4H, 12H)-디온 294mg, N-(t-부톡시카르보닐)글리신 235mg, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 염산염 661mg, 4-(N,N-디메틸아미노)피리딘 50mg 및 염화메틸렌 35ml를 혼합하고, 아르곤 기류하 실온에서 1.5시간 교반하였다. 반응액을 염화메틸렌 30ml로 희석하고, 물로 세정하고 무수황산나트륨으로 건조후 농축하고, 잔사를 실리카겔 칼럼(용출용매;염화메틸렌: 메탄올=25:1)으로 정제하였다. 용출된 황색포상물질을 염산포화 에틸아세테이트(3몰/리터) 3ml에 용해하고, 실온에서 1시간 교반후, 석출된 결정을 여과하여 취하였다. 여과하여 취한 결정을 에틸아세테이트로, 다음에 에테르로 세정하여, 황색분말인 목적물을 290mg얻었다.

<41> 융점 : 201 ~ 210℃(분해)

<42> 원소분석치 : $C_{26}H_{26}FN_3O_6 \cdot 2HCl \cdot 2H_2O$로서

<43> 계산치(%) : C, 51.66 ; H, 5.34 ; N, 6.95

<44> 실측치(%) : C, 51.57 ; H, 5.21 ; N, 7.20.

<45> 실시예 2

<46> (-)-4-[(아미노메틸카르보닐)옥시]-9-에톡시-11-에틸-4-(2-플루오로에틸)-1H-피라노[3', 4' : 6, 7]인돌리디노[1, 2-b]퀴놀린-3, 14(4H, 12H)-디온 염산염의 합성

<47> (+)-9-에톡시-11-에틸-4-(2-플루오로에틸)-4-히드록시-1H-피라노[3', 4': 6, 7]인돌리디노[1, 2-b]퀴놀린-3, 14(4H, 12H)-디온 10.0mg, N-(t-부톡시카르보닐)글리신 8.0mg, 1-에틸-3-(3-디메틸아미노프로필)카르보디이미드 염산염 22.0mg, 4-(N, N-디메틸아미노)피리딘 2mg 및 염화메틸렌 1ml를 혼합하고 아르곤 기류하, 실온에서 1시간 교반하였다. 반응액을 염화 메틸렌 2ml로 희석하고 물로 세정하고 무수황산나트륨으로 건조후 농축하고, 잔사를 실리카겔칼럼(용출용매 ; 염화 메틸렌 : 메탄올 = 25 : 1)으로 정제하였다. 용출된 황갈색 포상물질을 염산포화 에틸아세테이트(3몰/리터)0.2ml에 용해하고, 실온에서 30분간 교반한 후, 석출된 결정을 여과하여 취하였다. 여과하여 취한 결정을 에틸아세테이트로, 다음에 에테르로 세정하여 황색 고체의 목적물을 3.6mg얻었다.

<48> Mass(FAB) : m/e = 496 $[(M+H)^+]$

<49> $[\alpha]_D^{25}$ = -67.2℃(c = 0.13, 물)

## *산업상이용가능성*

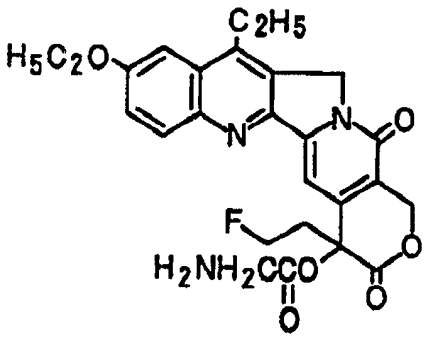
<50> 본 발명의 신규 플루오로에틸캠프토테신 유도체는 강한 항종양 활성을 가지고, 종래의 캠프토테신 유도체에 비하여 저독성이고 수용성이며, 유용한 화합물이다.

## *(57) 청구의 범위*

### 청구항 1

하기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 그의 염.

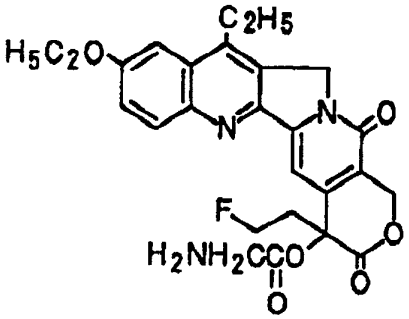
화학식 1



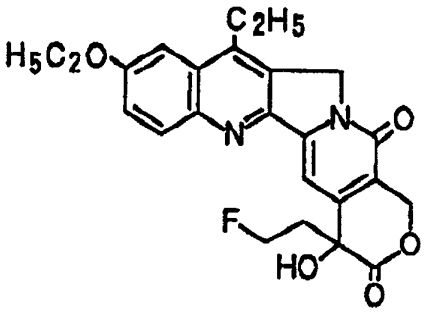

### 청구항 2

하기 화학식 2로 표시되는 화합물에 아미노기를 보호한 글리신 유도체를 반응시킨 후, 탈보호하는 것을 특징으로 하는 하기 화학식 1로 표시되는 화합물 및 그의 염의 제조 방법.

화학식 1



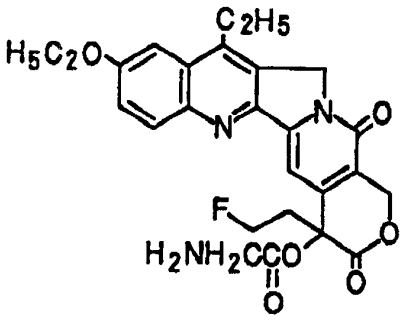
화학식 2



*요약*

본 발명은 화학식 1로 표시되는 화합물과 그의 염 및 이의 제조방법에 관한 것이다.

화학식 1



상기 플루오로에틸캠프토테신 유도체는 강한 항종양 활성을 가지며 저독성이고 수용성임으로, 유용한 화합물이다.