

새로운 Aminoisoquinolinylamide 유도체의 합성 및 흑색종 저해 효능

조혜정 · 유경호[†]

한국과학기술연구원 바이오소재연구센터
(2009년 3월 27일 접수 ; 2009년 6월 20일 채택)

Synthesis and Melanoma Inhibitory Activity of New Aminoisoquinolinylamide Derivatives

Hye-Jung Cho · Kyung-Ho Yoo[†]

*Biomaterials Research Center, Korea Institute of Science and Technology,
P.O. Box 131, Cheongryang, Seoul 130-650, Korea
(Received March 27 ; Accepted June 20, 2009)*

Abstract : In this work, a novel series of aminoisoquinolinylamide derivatives 1a-c and 2a-f were synthesized via several reaction steps, starting from 2-methyl-4-nitrobenzonitrile (3) and 1-chloro-5-nitroquinoline (8). And their antiproliferative activities were screened against A375 human melanoma cell line compared to Sorafenib as a reference compound. Among them, compound 1b and 1c exhibited meaningful inhibitory activities. These results demonstrated that aminoisoquinolinylamide scaffold possesses the possibility as the treatment for melanoma.

Keywords: aminoisoquinolinylamides, synthesis, antiproliferative activity, melanoma cell line

1. 서 론

지난 30여년 동안 암에 대한 연구는 급속한 진보를 거듭하여 많은 암 중에서 특이적 발암 유전자들이나 암 억제 유전자들이 동정되었다. 이들 유전자들의 기능 및 기전 연구를 통하여 새로운 치료법을 제시하고 있으나, 암은 여전히 인류가 넘어야 할 큰 숙제로 남아 있다.

현재 사용되고 있는 항암제 중에서 암세포의

특정한 신호전달체계의 표적분자를 근간으로 하여 개발된 표적 지향형 치료제 (targeted therapies)는 임상 3상 전체에서 약 64%의 비율을 차지하고 있다. 이와 관련하여 Gleevec (Novartis)[1], Iressa (Astrazeneca)[2], Tarceva (Genetech)[3] 등의 중앙 표적 지향형 화합물 관련 신약과 Herceptin (Genetech/Roche), Retuxan, Avastin, Erbitux 등의 항체 신약과 같은 혁신적 항암제가 상품화되어 기존 시장이 아닌 신규 시장을 창출함으로써 항암제 시장이 급격히 성장하고 있다. 또한, 진단기술이 발달함에 따라 적기에 수술 요법 및 약물 요법을

[†] 주저자 (E-mai: khyoo@kist.re.kr)

을 이용하였으며 반응에 이용한 용매는 J. T. Baker 사의 것을 정제 없이 사용하였다. NMR 용매는 Sigma-Aldrich 사의 DMSO- d_6 와 $CDCl_3$ 를 사용하였으며 시그널의 상대적인 위치는 용매 내에 들어있는 tetramethylsilane (TMS)을 기준으로 하거나 NMR 용매를 기준으로 하였다.

2.2. 실험 방법

(*E*)-2-(2-Dimethylaminovinyl)-4-nitrobenzonitrile (4)

2-Methyl-4-nitrobenzonitrile (500 mg, 3.08 mmol), *tert*-butoxybis(dimethylamino)methane (1.2 mL, 5.86 mmol)을 DMF에 용해시킨 후 70 °C에서 3시간 동안 가열 교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 *n*-hexane과 ethyl acetate 혼합 용매로 재결정한 후 여과하여 82.5%의 수율로 552 mg을 얻었다. 1H NMR (300 MHz, $CDCl_3$) δ 8.14 (1H, d, J = 2.06 Hz), 7.63 (1H, dd, J = 2.10, 2.11 Hz), 7.56 (1H, d, J = 8.52 Hz), 7.19 (1H, d, J = 13.30 Hz), 5.40 (1H, d, J = 13.32 Hz), 2.99 (6H, s).

2-(2,4-Dimethoxybenzyl)-6-nitroisoquinolin-1(2*H*)-imine (5)

화합물 4 (100 mg, 0.46 mmol), 2,4-dimethoxybenzylamine (0.086 mL, 0.58 mmol)을 1,3-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1*H*)-pyrimidinone (DMPU)에 용해시킨 후 130 °C에서 5시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 *n*-hexane과 ethyl acetate 혼합 용매로 재결정하고 여과하여, 57.2%의 수율로 89.3 mg을 얻었다. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.45 (1H, d, J = 8.84 Hz), 8.33 (1H, d, J = 2.23 Hz), 8.04 (1H, dd, J = 2.29, 2.32 Hz), 7.28 (1H, d, J = 7.37 Hz), 7.04 (1H, d, J = 8.36 Hz), 6.59 (1H, d, J = 2.11 Hz), 6.46 (1H, dd, J = 2.10, 2.06 Hz), 6.30 (1H, d, J = 7.40 Hz), 5.77 (1H, s), 4.96 (2H, s), 3.83 (3H, s), 3.73 (3H, s).

6-Nitroisoquinolin-1-amine (6)

화합물 5 (300 mg, 0.88 mmol)를 anisole (0.6 mL, 5.57 mmol)에 용해시킨 후 TFA (0.6

mL, 7.87 mmol)를 첨가한 후 90 °C에서 19시간 동안 가열 환류시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 methanol을 첨가하고, sodium bicarbonate 수용액을 사용하여 중화시켰다. 증류수로 여과하였고, 유기층을 ethyl acetate로 추출한 후 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류하여 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : *n*-hexane = 2 : 1)를 이용하여 분리 및 회수 후 66.1%의 수율로 110 mg을 얻었다. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.68 (1H, s), 8.43 (1H, d, J = 9.12 Hz), 8.18 (1H, dd, J = 2.28, 2.36 Hz), 7.96 (1H, d, J = 5.76 Hz), 7.20 (1H, s), 7.15 (2H, s).

3-Morpholino-*N*-(6-nitroisoquinolin-1-yl)-5-(trifluoromethyl)benzamide (7)

화합물 6 (100 mg, 0.53 mmol), 3-morpholino-5-(trifluoromethyl)benzoic acid (218 mg, 0.79 mmol), *N*-hydroxybenzotriazole (HOBt) (107 mg, 0.79 mmol) 및 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCI) (203 mg, 1.06 mmol)를 DMF에 용해시킨 후 triethylamine (0.2 mL, 1.59 mmol)를 첨가하였고, 90 °C에서 20시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거한 후, ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출하였고, 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류하여 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : *n*-hexane = 2 : 1)를 이용하여 분리·회수 후 65.5%의 수율로 155 mg을 얻었다. 1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 12.05 (1H, br. s), 9.03 (1H, s), 8.41 (3H, m), 8.00 (2H, m), 7.83(1H, s), 7.46 (1H, s), 3.78 (4H, m), 3.30 (4H, m).

N-(6-Aminoisoquinolin-1-yl)-3-morpholino-5-(trifluoromethyl)benzamide (1a)

화합물 7 (10 mg, 0.022 mmol)을 methanol (0.5 mL)에 용해시킨 후 5% palladium charcoal (3 mg)을 가한다. 수소 풍선을 사용하여 3시간 동안 상온에서 교반시켰다. 반응이 종결된 후 celite를 이용해 여과하여 palladium charcoal을 제거하였다. 여과액을 감압·증류한 후 column chromatography (ethyl acetate :

n-hexane = 2 : 1)를 이용하여 분리 및 회수하여 87.2%의 수율로 8 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ 15.23 (1H, br. s), 8.75 (1H, d, J = 8.81 Hz), 8.23 (1H, s), 8.09 (1H, s), 7.32 (1H, d, J = 6.84 Hz), 7.22 (1H, s), 7.00 (1H, dd, J = 2.21, 2.20 Hz), 6.85 (1H, d, J = 6.86 Hz), 6.75 (1H, d, J = 2.10 Hz), 4.34 (2H, s), 3.91 (4H, m), 3.30 (4H, m); MS m/z 417 (M+H) $^+$.

***N*-(6-Acetamidoisoquinolin-1-yl)-3-morpholino-5-(trifluoromethyl)benzamide (1b)**

화합물 1a (11 mg, 0.026 mmol)을 pyridine (0.4 mL)에 용해시킨 후 acetic anhydride (0.004 mL, 0.032 mmol)을 첨가하였고, 90 °C에서 16시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거한 후 ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출하였고, 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 2 : 1)를 이용하여 분리·회수하여 75.5%의 수율로 9 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ 10.46 (1H, s), 8.45 (2H, s), 7.84 (5H, m), 7.40 (2H, m), 3.79 (4H, m), 3.32 (4H, m), 2.14 (3H, s); MS m/z 459 (M+H) $^+$.

***N*-(6-Benzamidoisoquinolin-1-yl)-3-morpholino-5-(trifluoromethyl)benzamide (1c)**

화합물 1a (3 mg, 0.007 mmol)을 pyridine (0.4 mL)에 용해시킨 후, benzoic anhydride (4 mg, 0.017 mmol)을 첨가하였고, 80 °C에서 25시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압 증류하여 제거하였고, ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출한 후 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 2 : 1)를 이용하여 분리·회수하여 82.5%의 수율로 3 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl $_3$) δ 8.93 (1H, br s), 8.48 (1H, d, J = 1.95 Hz), 8.24 (1H, s), 8.14 (1H, s), 8.10 (1H, s), 7.94 (2H, dd, J = 7.60, 1.44 Hz), 7.53 (7H, m), 7.11 (1H, d, J = 6.91 Hz), 3.92 (4H, m), 3.32 (4H, m); MS m/z 521 (M+H) $^+$.

1-Chloro-5-nitroisoquinoline (9)

화합물 1-chloroisoquinoline (1 g, 6.11 mmol)를 sulfuric acid (5 mL, 84.4 mmol)에 용해시켰고, nitric acid (0.9 mL, 21.4 mmol)를 0 °C에서 천천히 적가시킨 후 상온에서 3시간 동안 교반시켰다. 반응이 종결되면 0 °C로 냉각시켰고 sodium bicarbonate 수용액으로 중화시킨 후 증류수로 여과하여, 98.8%의 수율로 1.26 g을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, DMSO- d_6) δ 8.74 (2H, t, J = 7.73 Hz), 8.55 (1H, d, J = 6.10 Hz), 8.31 (1H, d, J = 6.08 Hz), 8.02 (1H, t, J = 8.15 Hz).

5-Nitroisoquinolin-1-amine (10)

화합물 9 (500 mg, 2.40 mmol)에 ammonia (7N solution in MeOH) (10 mL)을 첨가한 후 80 °C에서 40시간 동안 가열·환류시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압·증류하여 제거한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 2 : 1)를 이용하여 분리·회수하여 77.1%의 수율로 350 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl $_3$) δ 8.41 (1H, dd, J = 1.04, 1.05 Hz), 8.13 (2H, m), 7.76 (1H, d, J = 5.66 Hz), 7.58 (1H, t, J = 8.04 Hz), 5.36 (2H, br. s).

4-Chloro-*N*-(5-nitroisoquinolin-1-yl)-3-(trifluoromethyl)benzamide (11a)

화합물 10 (100 mg, 0.53 mmol), 4-chloro-3-(trifluoromethyl)benzoic acid (214 mg, 0.95 mmol), *N*-hydroxybenzotriazole (HOBT) (128 mg, 0.95 mmol) 및 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCI) (203 mg, 1.06 mmol)를 DMF에 용해시켰고, triethylamine (0.2 mL, 1.56 mmol)를 첨가한 후 80 °C에서 20시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압·증류하여 제거하였고, ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출한 후 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 1 : 2)를 이용하여 분리·회수하여 64.6%의 수율로 135 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl $_3$) δ 15.3 (1H, br. s), 9.38 (1H, s), 8.76 (1H, s), 8.58 (1H, d, J = 6.86

(Hz), 8.50 (1H, d, $J = 8.14$ Hz), 7.91 (1H, d, $J = 15.01$ Hz), 7.82 (1H, t, $J = 8.08$ Hz), 7.63 (2H, d, $J = 8.14$ Hz).

***N*-(5-Nitroisoquinolin-1-yl)-3,5-bis(trifluoromethyl)benzamide (11b)**

화합물 10 (100 mg, 0.53 mmol), 3,5-bis(trifluoromethyl)benzoic acid (246 mg, 0.95 mmol), *N*-hydroxybenzotriazole (HOBt) (128 mg, 0.95 mmol) 및 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCI) (203 mg, 1.06 mmol)를 DMF에 용해시킨 후 triethylamine (0.2 mL, 1.59 mmol)를 첨가한 다음 80 °C에서 30시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압·증류하여 제거한 후 ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출하였고, 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 1 : 2)를 이용하여 분리·회수하여 68.6%의 수율로 156 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 15.63 (1H, s), 9.40 (1H, d, $J = 8.07$ Hz), 8.86 (2H, s), 8.61 (1H, dd, $J = 1.34, 1.30$ Hz), 8.04 (1H, s), 7.93 (1H, d, $J = 6.91$ Hz), 7.85 (1H, m), 7.66 (1H, m).

***N*-(5-Aminoisoquinolin-1-yl)-4-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide (2a)**

화합물 11a (60 mg, 0.15 mmol)을 methanol (3 mL)에 용해시킨 후 5% palladium charcoal (30 mg, mmol)을 가한다. 수소 풍선을 사용하여 2시간 동안 상온에서 교반시켰다. 반응이 종결된 후 celite를 이용해 여과하여 palladium charcoal을 제거하였고, 여과액을 감압·증류한 후 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 2 : 1)를 이용하여 분리·회수하여 84.8%의 수율로 47 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 15.62 (1H, s), 8.79 (1H, s), 8.53 (1H, d, $J = 8.32$ Hz), 8.45 (1H, d, $J = 8.19$ Hz), 7.60 (1H, d, $J = 8.22$ Hz), 7.51 (1H, m), 7.43 (1H, t, $J = 5.96$ Hz), 7.13 (1H, d, $J = 7.62$ Hz), 7.08 (1H, d, $J = 6.92$ Hz), 4.13 (2H, s); MS m/z 366 (M+H) $^+$.

***N*-(5-Aminoisoquinolin-1-yl)-3,5-bis(trifluoromethyl)benzamide (2b)**

화합물 11b (60 mg, 0.14 mmol)을 methanol (4 mL)에 용해시킨 후 5% palladium charcoal (30 mg)을 가한다. 수소 풍선을 사용하여 1시간 동안 상온에서 교반시켰다. 반응이 종결된 후 celite를 이용해 여과하여 palladium charcoal을 제거하였고, 여과액을 감압·증류한 후 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 2 : 1)를 이용하여 분리·회수하여 80.5%의 수율로 45 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 15.62 (1H, s), 8.88 (2H, s), 8.46 (1H, d, $J = 8.15$ Hz), 7.99 (1H, s), 7.54 (1H, t, $J = 7.91$ Hz), 7.47 (1H, d, $J = 6.75$ Hz), 7.14 (2H, m), 4.15 (2H, s); MS m/z 400 (M+H) $^+$.

***N*-(5-Acetamidoisoquinolin-1-yl)-4-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide (2c)**

화합물 2a (10 mg, 0.027 mmol)을 pyridine (1 mL)에 용해시킨 후 acetic anhydride (0.01 mL, 0.11 mmol)을 첨가한 다음 80 °C에서 30시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압·증류하여 제거한 후 ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출하였고, 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 1 : 1)를 이용하여 분리·회수하여 45.4%의 수율로 5 mg을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (300 MHz, CDCl_3) δ 15.58 (1H, br. s), 8.94 (1H, s), 8.78 (1H, s), 8.52 (1H, d, $J = 7.56$ Hz), 8.08 (1H, d, $J = 7.40$ Hz), 7.71 (1H, t, $J = 7.57$ Hz), 7.61 (1H, d, $J = 8.42$ Hz), 7.50 (1H, s), 7.31 (1H, s), 7.11 (1H, s), 2.34 (3H, s); MS m/z 408 (M+H) $^+$.

***N*-(5-Acetamidoisoquinolin-1-yl)-3,5-bis(trifluoromethyl)benzamide (2d)**

화합물 2b (10 mg, 0.025 mmol)을 pyridine (1 mL)에 용해시킨 후 acetic anhydride (0.01 mL, 0.13 mmol)을 첨가한 후 80 °C에서 17시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압·증류하여 제거한 후 ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출하였고, 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 2

: 1)를 이용하여 분리·회수하여 45.2%의 수율로 5 mg을 얻었다. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 15.30 (1H, s), 10.05 (1H, s), 8.78 (2H, s), 8.36 (2H, s), 8.18 (1H, br. s), 8.01 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 7.67 (2H, m), 2.20 (3H, s); MS m/z 442 (M+H) $^+$.

N-(5-Benzamidoisoquinolin-1-yl)-4-chloro-3-(trifluoromethyl)benzamide (2e)

화합물 2a (10 mg, 0.027 mmol)을 pyridine (1 mL)에 용해시킨 후 benzoic anhydride (4 mg, 0.016 mmol)을 첨가하여 80 °C에서 25시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압·증류하여 제거한 후 ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출하였고, 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 1 : 1)를 이용하여 분리·회수하여 45.6%의 수율로 3 mg을 얻었다. ^1H NMR (300 MHz, CDCl $_3$) δ 8.94 (1H, d, $J = 8.47$ Hz), 8.78 (1H, d, $J = 1.78$ Hz), 8.53 (1H, dd, $J = 1.64, 1.84$ Hz), 8.19 (1H, d, $J = 7.53$ Hz), 8.00 (3H, m), 7.76 (1H, t, $J = 7.99$ Hz), 7.61 (5H, m), 7.51 (1H, m), 7.16 (1H, d, $J = 7.09$ Hz); MS m/z 470 (M+H) $^+$.

N-(5-Benzamidoisoquinolin-1-yl)-3,5-bis(trifluoromethyl)benzamide (2f)

화합물 2b (10 mg, 0.025 mmol)을 pyridine (1 mL)에 용해시킨 후 benzoic anhydride (7 mg, 0.030 mmol)을 첨가하여 80 °C에서 26시간 동안 가열·교반시켰다. 반응이 종결되면 용매를 감압·증류하여 제거한 후 ethyl acetate와 sodium bicarbonate 수용액으로 추출하였고, 무수 magnesium sulfate로 건조하여 여과하였다. 용매를 감압·증류한 후 혼합물을 column chromatography (ethyl acetate : n-hexane = 1 : 1)를 이용하여 분리·회수하여 51.5%의 수율로 7 mg을 얻었다. ^1H NMR (300 MHz, DMSO- d_6) δ 15.8 (1H, s), 10.60 (1H, s), 8.81 (2H, s), 8.52 (1H, br. s), 8.40 (1H, s), 8.10 (3H, d, $J = 6.84$ Hz), 7.96 (1H, d, $J = 7.25$ Hz), 7.78 (1H, t, $J = 7.95$ Hz), 7.62 (4H, m); MS m/z 504 (M+H) $^+$.

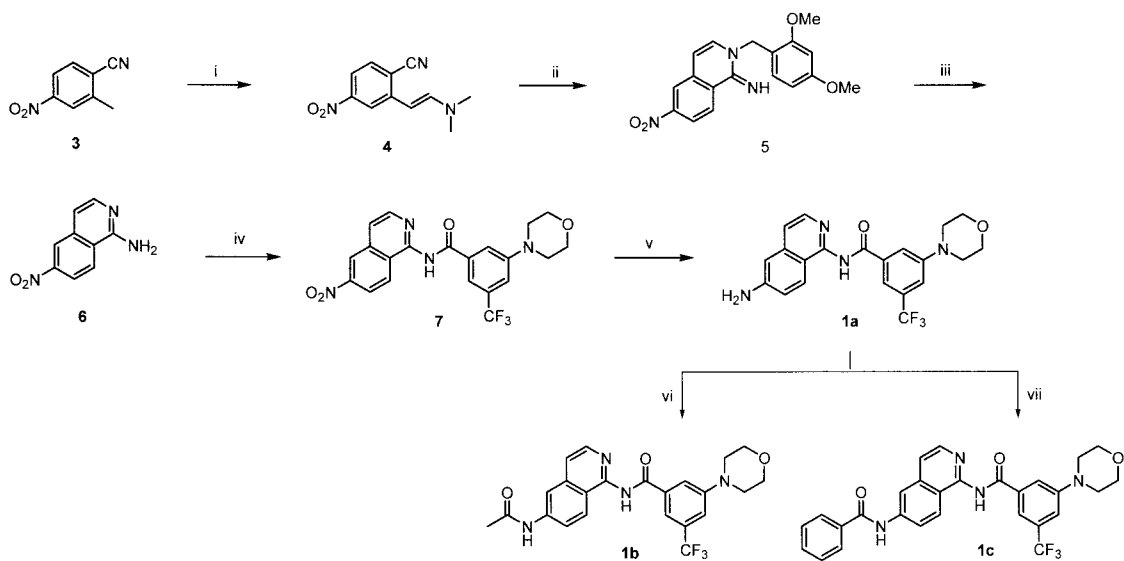
3. 결과 및 고찰

본 연구에서의 최종 목적 화합물인 6-amino-isoquinolinylamide 유도체 1a-c는 핵심 중간체로 사용되는 6-nitroisoquinolin-1-amine (6)을 거쳐서 Scheme 1에서와 같은 일련의 경로를 통해 합성하였다.

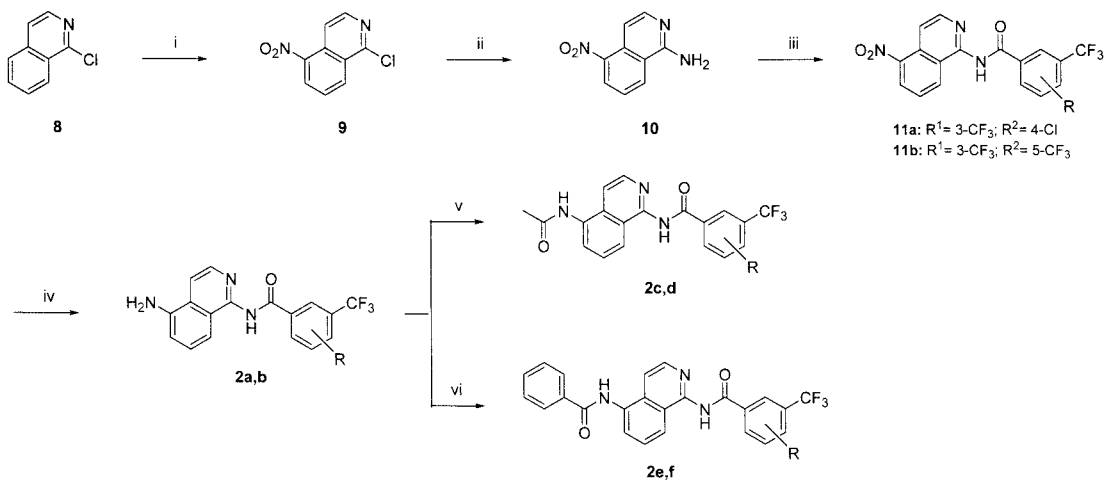
출발 물질로서 2-methyl-4-nitrobenzonitrile 화합물 (3)을 *tert*-butoxy-bis(dimethylamino) methane과 반응시켜서 aminovinyl 화합물 4를 합성하였다. 화합물 4와 2,4-dimethoxybenzyl-amine을 1,3-dimethyl-3,4,5,6-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinone(DMPU)를 용매로 사용하여 반응시켜서 isoquinolinylimine 화합물 5를 합성하였으며, 이어서 화합물 5를 trifluoroacetic acid 존재 하에서 anisole을 용매로 사용하여 핵심 중간체인 isoquinolinylamine 화합물 6을 합성하였다[16]. Amide 화합물 7은 화합물 6과 3-morpholino-5-(trifluoromethyl)benzoic acid를 *N*-hydroxybenzotriazole (HOBT), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDCI) 및 triethylamine 존재 하에서 amide coupling을 통하여 합성하였으며[17], 얻어진 화합물 7의 nitro기를 5% palladium charcoal을 이용하여 methanol 내에서 환원 반응시켜서 최종 목적물인 amine 화합물 1a를 합성하였다. 이어서 화합물 1a를 acetic anhydride 및 benzoic anhydride와 염기로서 pyridine 존재 하에서 반응시켜서 최종 목적물인 acetamide 화합물 1b 및 benzamide 화합물 1c를 각각 합성하였다.

최종 목적물인 5-aminoisoquinolinylamide 유도체 2a-f는 Scheme 2에서와 같이 핵심 중간체인 5-nitroisoquinolin-1-amine (10)을 거쳐서 합성하였다.

출발 물질로서 1-chloro-5-nitroquinoline 화합물 (8)을 nitric acid 및 sulfuric acid를 사용하여 니트로화 시켜서 nitroisoquinoline 화합물 9를 합성하였다[18]. 화합물 9의 chloro 기를 MeOH 내의 7N 용액 ammomia를 사용하여 amino 기로 치환된 핵심 중간체인 quinolinyl-amine 화합물 10을 합성하였다. Amide 화합물 11a,b는 화합물 10과 Scheme 1에서와 동일한 반응 조건 하에서 amide coupling을 통하여 각각 합성하였으며, 얻어진 화합물 11a,b의 nitro



Scheme 1. *Reagents and reaction conditions:* (i) *tert*-butoxybis(dimethylamino)methane, DMF, 70 °C, 3 h; (ii) 2,4-dimethoxybenzylamine, DMPU, 130 °C, 5 h; (iii) anisole, TFA, 90 °C, 19 h; (iv) 3-morpholino-5-(trifluoromethyl)benzoic acid, HOBT, EDCI, triethylamine, DMF, 90 °C, 20 h; (v) Pd/C, H₂, MeOH, rt, 3 h; (vi) acetic anhydride, pyridine, 90 °C, 16 h; (vii) benzoic anhydride, pyridine, 80 °C, 25 h.



Scheme 2. *Reagents and reaction conditions:* (i) HNO₃, H₂SO₄, rt, 3 h; (ii) NH₃ 7N solution in MeOH, 80 °C, 40 h; (iii) 4-chloro-3-(trifluoromethyl)benzoic acid (for **11a**), 3,5-bis(trifluoromethyl)benzoic acid (for **11b**), HOBT, EDCI, triethylamine, DMF, 80 °C, 30 h; (iv) Pd/C, H₂, MeOH, rt, 2 h; (v) acetic anhydride, pyridine, 80 °C, 30 h; (vi) benzoic anhydride, pyridine, 80 °C, 30 h.

Table 1. Antiproliferative activity of aminoquinolinylamide derivatives.

Compds	A	R	IC ₅₀
1a	NH ₂	-	Not fitted
1b	CH ₃ CONH	-	128.1 μM
1c	C ₆ H ₅ CONH	-	107.3 μM
2a	NH ₂	4-Cl	Not fitted
2b	NH ₂	5-CF ₃	Not fitted
2c	CH ₃ CONH	4-Cl	Not fitted
2d	CH ₃ CONH	5-CF ₃	Not fitted
2e	C ₆ H ₅ CONH	4-Cl	Not fitted
2f	C ₆ H ₅ CONH	5-CF ₃	Not fitted
Sorafenib			5.6 μM

기를 5% palladium charcoal을 이용하여 methanol 내에서 환원 반응시켜서 최종 목적물인 amine 화합물 2a,b를 각각 합성하였다. 한편, acetylamide 및 benzoylamide 기를 가지는 최종 목적물인 2c,d 및 2e,f는 최종 목적물 1b,c 합성시의 최종 단계와 동일한 반응을 통하여 합성하였다.

Table 1은 합성한 aminoisoquinolinylamide 유도체 1a-c 및 2a-f의 A375 human 흑색종 종양 세포 (melanoma cell line)에 대한 증식 저해 효능을 나타낸다. 대조 물질로는 흑색종에 대하여 우수한 저해 활성을 나타내는 것으로 알려진 Sorafenib (Nexavar)[19]를 사용하였다.

화합물 1b 및 1c는 흑색종 종양 세포에 대하여 대조 물질보다는 저해 효능이 저조하였으나, IC₅₀ 값이 각각 128.1 μM 및 107.3 μM로서 의미 있는 저해 효능을 나타내었다. 그러나, 화합물 2a-f의 경우에는 흑색종 종양 세포에 대하여 유효한 저해 효능을 나타내지는 못 하였다.

4. 결 론

본 연구에서는 현재까지 효과적인 치료제가 존재하지 않는 흑색종에 대한 저해제로서 새로운 골격 구조를 가지는 일련의 aminoisoquinolinylamide 유도체들을 분자 설계를 통하여 합성하였다. 이 중에서 화합물 1b 및 1c는

A375 human 흑색종 종양 세포 (melanoma cell line)에 대하여 IC₅₀ 값이 각각 128.1 μM 및 107.3 μM로서 의미 있는 세포 증식 저해 효능을 나타내었다. 따라서, 본 연구는 흑색종 치료제 개발에 적용 가능한 새로운 골격 구조 및 접근 방법을 제시하였다.

감사의 글

이 연구는 한국과학기술연구원 기관고유사업의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

참고문헌

1. B. J. Druker and N. B. Lydon, Lessons Learned from the Development of an Abl Tyrosine Kinase Inhibitor for Chronic Myelogenous Leukemia, *J. Clin. Invest.*, 105, 3 (2000).
2. D. Raben, B. A. Helfrich, D. Chan, G. Johnson, and P. A. Bunn, Jr., ZD1839, A Selective Epidermal Growth Factor Receptor Tyrosine Kinase Inhibitor Alone and in Combination with Radiation and Chemotherapy as a New Therapeutic

- Strategy in Non-small Cell Lung Cancer, *Semin. Oncol.*, 29 (Supplement 4), 37 (2002).
3. R. Pérez-Soler, A. Chachoua, L. A. Hammond, E. K. Rowinsky, M. Huberman, D. Karp, J. Rigas, G. M. Clark, P. Santabárbara, and P. Bonomi, Determinants of Tumor Response and Survival with Erlotinib in Patients with Non-Small-Cell Lung Cancer, *J. Clin. Oncol.*, 22, 3238 (2004).
 4. F. R. Gruijl, UV Carcinogenesis and Melanocytes, *Pigment Cell Res.*, 16, 591 (2003).
 5. C. Garbe, A. Hauschild, M. Volkenandt, D. Schadendorf, W. Stolz, U. Reinhold, R. D. Kortmann, C. Kettelhack, B. Frerich, U. Keilholz, R. Dummer, G. Sebastian, W. Tilgen, G. Schuler, A. Mackensen, and R. Kaufmann, Evidence and Interdisciplinary Consensus-based German Guidelines: Diagnosis and Surveillance of Melanoma, *Melanoma Res.*, 17, 393 (2007).
 6. J. A. Carlson, J. S. Ross, A. Slominski, G. Linette, J. Mysliborski, J. Hill, and M. Mihm, Jr., Molecular Diagnostics in Melanoma, *J. Am. Acad. Dermatol.*, 52, 743 (2005).
 7. A. C. Buzaid and C. M. Anderson, The Changing Prognosis of Melanoma, *Curr. Oncol. Rep.*, 2, 322 (2000).
 8. M. R. Middleton, J. J. Grob, N. Aaronson, G. Fierlbeck, W. Tilgen, S. Seiter, M. Gore, S. Aamdal, J. Cebon, A. Coates, B. Dreno, M. Henz, D. Schadendorf, A. Kapp, J. Weiss, U. Fraass, P. Statkevich, M. Muller, and N. Thatcher, Randomized Phase III Study of Temozolomide versus Dacarbazine in the Treatment of Patients with Advanced Metastatic Malignant Melanoma, *J. Clin. Oncol.*, 18, 158 (2008).
 9. A. Y. Bedikian, M. Millward, H. Pehamberger, R. Conry, M. Gore, U. Trefzer, A. C. Pavlick, R. DeConti, E. M. Hersh, P. Hersey, J. M. Kirkwood, and F. G. Haluska, Bcl-2 Antisense (oblimersen sodium) Plus Dacarbazine in Patients With Advanced Melanoma: The Oblimersen Melanoma Study Group, *J. Clin. Oncol.*, 24, 4738 (2006).
 10. D. H. Lawson, Choices in Adjuvant Therapy of Melanoma, *Cancer Control*, 12, 236 (2005).
 11. S. A. Rosenberg, M. T. Lotze, J. C. Yang, P. M. Aebersold, W. M. Linehan, C. A. Seipp, and D. E. White, Experience with the Use of High Dose Interleukin-2 in the Treatment of 652 Cancer Patients, *Ann. Surg.*, 210, 474 (1989).
 12. M. B. Atkins, M. T. Lotze, J. P. Dutcher, R. I. Fisher, G. Weiss, K. Margolin, J. Abrams, M. Sznol, D. Parkinson, M. Hawkins, C. Paradise, L. Kunkel, and S. A. Rosenberg, High-dose Recombinant Interleukin 2 Therapy for Patients with Metastatic Melanoma: Analysis of 270 Patients Treated between 1985 and 1993, *J. Clin. Oncol.*, 17, 2105 (1999).
 13. C. M. Anderson, A. C. Buzaid, and S. S. Legha, Systemic Treatments for Advanced Cutaneous Melanoma, *Oncology*, 9, 1149 (1995).
 14. L. Serrone, M. Zeuli, F. M. Sega, and F. Cagnetti, Dacarbazine-based Chemotherapy for Metastatic Melanoma: Thirty-year Experience Overview, *J. Exp. Clin. Cancer Res.*, 19, 21 (2000).
 15. W. S. Fletcher, D. S. Daniels, V. K. Sondak, B. Dana, R. Townsend, H. E. Hynes, L. F. Hutchins, and J. R. Pancoast, Evaluation of Cisplatin and DTIC in Inoperable Stage III and IV Melanoma, *Am. J. Clin. Oncol.*, 16, 359 (1993).
 16. X. Zhang, A. Nirschl, Y. Zou, and E. S. Priestley, Phenylglycinamide and Pyridylglycinamide Derivatives Useful as Anticoagulants, WO 07/002313.
 17. L. V. Dubey, and I. V. Dubey, Side Reactions of Onium Coupling Reagents BOP and HBTU in the Synthesis of

- Silica Polymer Supports, *Ukr. Bioorg. Acta*, 1, 13 (2005).
18. S. A. Gamage, J. A. Spicer, G. W. Rewcastle, J. Milton, S. Sohal, W. Dangerfield, P. Mistry, N. Vicker, P. A. Charlton, and W. A. Denny, Structure-activity Relationships for Pyrido-, Imidazo-, Pyrazolo-, Pyrazino-, and Pyrrolophenazinecarboxamides as Topoisomerase-targeted Anticancer Agents, *J. Med. Chem.*, 45, 740 (2002).
19. S. M. Wilhelm, L. Adnane, P. Newell, A. Villanueva, J. M. Llovet, and M. Lynch, Preclinical Overview of Sorafenib, a Multikinase Inhibitor that Targets Both Raf and VEGF and PDGF Receptor Tyrosine Kinase Signaling, *Mol. Cancer Ther.*, 7, 3129 (2008).