

制癌性物質의 合成에 關한 研究 VI*

2, 4-Dihydroxy-5-nitropropiofenone

誘導體의 合成 및 抗腫瘍試驗

鄭 源 根** · 李 南 馥***

(Received June 2, 1973)

Won Keun Chung and Nam Bok Lee : Studies on the Synthesis of Antineoplastic Agents. VI. Synthesis and Antineoplastic Activity of 2, 4-Dihydroxy-5-nitropropiofenone Derivatives.

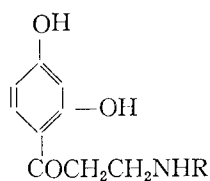
Abstract—Seven β -substituted-2, 4-dihydroxy-5-nitropropiofenones were synthesized as potential antineoplastic agents, and subjected to the screening test of survival effect and cell decrease effect. Of the synthesized compounds, β -(1-methyl-1-hydroxymethyl) ethylamino-2, 4-dihydroxy-5-nitropropiofenone, β -(1, 1-dihydroxymethyl) ethylamino-2, 4-dihydroxy-5-nitropropiofenone and β -(1, 1-dihydroxymethyl) propylamino-2, 4-dihydroxy-5-nitropropiofenone were found to be active against both Ehrlich ascites carcinoma and Sarcoma 180.

Resacetophenone의 Mannich base 誘導體의 合成은 前報¹⁾에서 報告한바 있으며 resorcinol 誘導體의 合成과 抗腫瘍試驗에 關한 研究는 越浦等²⁾에 依하여 報告되고 있다. 越浦等은 4-amino-6-n-hexylresorcinol을 合成하여 Ehrlich ascites carcinoma, Sarcoma 180 및 AH 13 ascitic hepatoma 등의 實驗腫瘍에 投與한 結果 生存試驗에 있어 完全抑制效果를 報告하고 있다. 뿐만 아니라 이들은 4-amino-6-n-hexylresorcinol이 水溶液狀態에서 不安定化하여 不活性型으로 autooxidation 된다는 事實은 이 物質의 特性이라고 指摘하여 masked form의 開發을 示唆하고 있다.

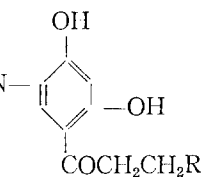
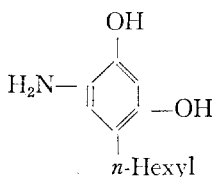
* Part V, *this Journal*, 16, 149 (1972).

** College of Pharmacy, Seoul National University.

*** Graduate School, Seoul National University.



[(R=bis (2-chloroethyl))]



(R=alkylamino)

Chart 1—Structural relationship among some antineoplastic resorcinol compounds.

著者等은 越浦等이 報告한 4-amino-6-*n*-hexylresorcinol 과 著者等이 報告한바 있는 alkylaminopropiophenone 이 6 位置의 *n*-hexyl基가 alkylaminoethylcarbonyl基인 差異는 있으나 다 같이 resorcine 核을 保有한다는 事實에 興味를 갖이고, 4 位置의 amino 基代身에 nitro 基를 導入하고 alkylamino 基를 Billman 等^{3,4)}이 報告한 制癌性 amino 基로 代替함으로써 새로운 resorcinol 誘導體를 合成하기 爲하여 本實驗에 着手하였다. 2,4-dihydroxy-5-nitroacetophenone 의 合成은 Omer⁵⁾의 nitration method 를 利用하였고 Mannich 反應에 있어 formaldehyde 源으로 paraformaldehyde 를 使用하였다.

合成物質의 抗腫瘍試驗은 Ehrlich ascites carcinoma 및 Sarcoma 180 을 腹腔內에 移植한 dd 系 mouse 에 對하여 生存試驗 및 細胞數變動試驗을 遂行하였다.

實 驗

合 成

2,4-Dihydroxypropiophenone—容量 250 ml beaker 에 無水 鹽化亞鉛 19.5 g(0.12 mole) 와 冰醋酸 16.5 g(0.27 mole)을 取한 後, 攪拌하면서 加熱溶解시킨 後, 液溫을 140~150°C 를 維持하면서 11 g(0.1 mole)의 resorcinol 을 少量式 加한다. 繼續하여 30 分間 攪拌한 後, 20% HCl 50 ml 를 加하여 0~5°C 에 一晝夜 放置하면 赤褐色沈澱이 生成한다. 結晶을 濾取한 後 dil. HCl 로 數回洗滌하고 다시 dil. HCl 에 加溫溶解하여 0~5°C 에 放冷하여 結晶을 析出시키고, 生成한 結晶을 濾取한 後 氷水로 數回洗滌하면 微黃色針狀結晶을 얻는다. m.p. 142~144° (收得量 9.3 g)

2,4-Dihydroxy-5-nitroacetophene—容量 250 ml beaker 에 conc. HNO₃(d. 1.42) 80ml 를 取하고 ice-bath 中에서 10°C 以下로 冷却하면서 conc. H₂SO₄ 10 ml 를 加한 後, 繼續하여 2,4-dihydroxyacetophenone 10 g 를 少量式加 한다. 1 時間동안 攪拌을 繼續한 後, 反應混合物를 氷水中에 注加하여 結晶을 析出시키고 濾取한 結晶을 溫水로 數回 洗滌한 後 EtOH 로

再結晶하면 微黄色의 針狀結晶을 얻는다. m.p. 144~146° (收得量 8.2 g)

β -Piperidino-2,4-dihydroxy-5-nitropropiophenone(I)—Nitroresacetophenone 0.98g (0.005mole)와 piperidine 0.43 g(0.005 mole)을 CHCl_3 20 ml 에 녹히고 paraformaldehyde 0.15 g를 加하여 水溶中에서 30 分間 攪拌하면서 還流한다. 生成한 黄色沈澱을 濾取하여 acetone 과 H_2O 로 數回式洗滌하여 未反應의 nitroacetophenone 를 除去한 後, EtOH 로 再結晶하면 黄色針狀結晶을 얻는다. m.p. 240° (dec.) (收得量 0.4 g)

β -Substituted-2,4-dihydroxy-5-nitropropiophenons—(II)—(VII)의 合成은 (I)의 合成法에 準하여 合成하였고 溶解度의 差異에 따라 (II)는 dimethylformamide 로, (III)—(VII)은 acetone 으로 再結晶하였다.

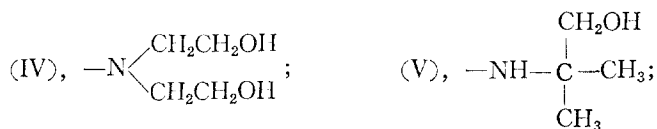
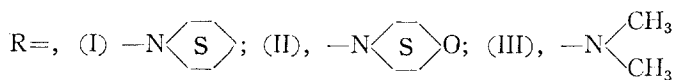
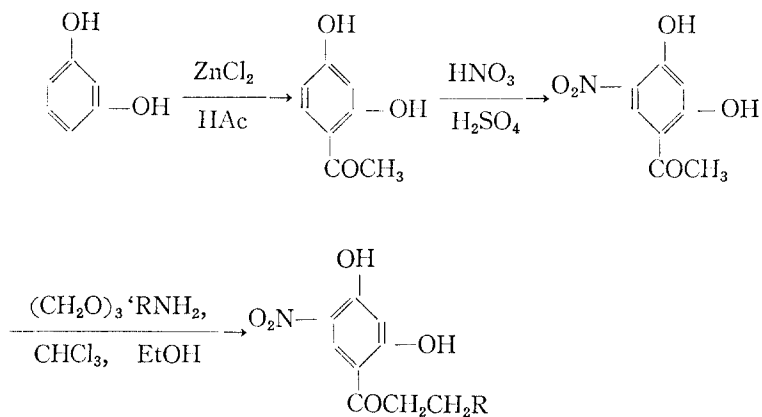
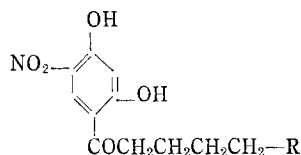


Chart 2—Course of the synthesis.

Table I— β -Substituted-2, 4-dihydroxy-5-nitropropiophenones.

No.	R	Recryst. solvent	mp	Appearance	Formula	Analysis(%)	
						Calcd.	Found
R-I	$-\text{N} \begin{array}{c} \diagup \\ \text{S} \\ \diagdown \end{array}$	Ethanol	240(dec.)	yellow needle	$\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5$	C 57.10 H 6.17 N 9.52	56.91 5.97 9.92
R-II	$-\text{N} \begin{array}{c} \diagup \\ \text{S} \\ \diagdown \end{array} \text{O}$	DMF*	210(dec.)	yellow cryst. powder	$\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_6$	C 52.72 H 5.44 N 9.46	52.33 5.18 9.33
R-III	$-\text{N} \begin{array}{c} \text{CH}_3 \\ \diagup \\ \text{CH}_3 \end{array}$	Acetone	190—192	yellow cryst. powder	$\text{C}_{11}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_5$	C 51.97 H 5.55 N 11.02	51.70 5.28 10.72
R-IV	$-\text{N} \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} \\ \diagup \\ \text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	"	160—162	yellow needle	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7$	C 49.68 H 5.77 N 8.91	49.59 5.25 8.82
R-V	$-\text{NH} \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array}$	"	215—217	pale yellow needle	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_6$	C 52.34 H 6.04 N 9.39	52.43 5.89 9.62
R-VI	$-\text{NH} \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C} - \text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	"	195—197	pale yellow needle	$\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7$	C 49.68 H 5.77 N 8.91	49.80 5.60 9.03
R-VII	$-\text{NH} \begin{array}{c} \text{CH}_2\text{OH} \\ \\ \text{C} - \text{C}_2\text{H}_5 \\ \\ \text{CH}_2\text{OH} \end{array}$	"	180—182	yellow needle	$\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_7$	C 51.21 H 6.14 N 8.54	50.71 5.86 8.21

* Dimethylformamide

抗腫瘍試驗

試驗方法

試料—Table I에 表示된 合成物質 7種; 이들 試料를 生理食鹽水에 懸濁시키고 懸濁液 0.5 ml 中에 投與量(10 mg, 5 mg, 2.5 mg)이 含有되도록 調劑하였다(0.5%에 該當하는 carboxymethylcellulose 添加).

動物—dd系 健康 mouse(♂, 體重 20 g 前後)를 使用하였다.

腫瘍—(i) Ascitic Ehrlich carcinoma(Ehrlich)

(ii) Sarcoma 180

*, **; Strains were obtained from the Department of Synthetic Chemistry, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Osaka University, Japan.

腹水性腫瘍의 生成 및 繼代⁶⁾—Ehrlich 및 S-180 를 各各 細胞數 10⁶個式(1 週日期 腹水約 0.1 ml 에 該當)을 腹腔內에 移植한 後 7—9 日 間に 繼代하였다.

腹水性腫瘍에 對한 抗腫瘍試驗—Ehrlich 및 S-180 을 各各 腹腔內에 移植한 後 24 時間부터 試料 10 mg, 5 mg 및 2.5 mg 式을 1 日 1 回 連續 7 日間腹腔內에 注射하여 生存效果를 觀察하였다(1 群 5—10 匹).

腫瘍細胞의 顯微鏡의 觀察—Ehrlich 및 S-180 을 移植後 24 時間後부터 藥物을 投與하고 藥物投與後 1 時間後부터 72 時間까지 經時的으로 腹水を 採取하여 腫瘍細胞數의 藥物投與에 依한 變化를 觀察하였다.

結 果

生存效果—50% 生存日數가 對照群의 2 倍인 것을 有効로 判定하였다. 大體적으로 Table I 에 表示된 化合物 7 種中 10 mg 投與群이 有効한 生存結果를 나타냈다(Table II).

腫瘍細胞에 미치는 影響—Table III와 같이 어떤 藥物도 投與後 1 時間부터 急激히 細胞數가 減少하여 約 10 時間持續하며 R-V, R-VI, R-VII 는 45—70 時間 細胞數減少를 維持하였다.

Table II—Survival effect of β -substituted 2,4-dihydroxy-5-nitro-propiofenones against Ehrlich ascite scarcinoma and sarcoma 180.

Compounds	No. of treated animal	Survival [Surv. (days)]					
		S-180			Ehrlich		
		10mg	5mg	2.5mg	10mg	5mg	2.5mg
R-I	10	4(24)	4(20)	4(22)	3(20)	4(18)	2(17)
R-II	10	4(28)	3(20)	5(18)	5(18)	4(18)	5(16)
R-III	10	6(24)	5(21)	3(17)	4(20)	4(24)	5(20)
R-IV	10	4(28)	3(24)	3(13)	3(22)	4(20)	4(18)
R-V	10	7(26)	4(20)	3(15)	6(28)	3(26)	4(20)
R-VI	10	6(20)	4(19)	4(14)	5(24)	3(20)	5(18)
R-VII	10	6(25)	3(20)	6(18)	5(27)	4(18)	3(15)
Control*	5	0(13)	0(14)	0(14)	0(15)	0(14)	0(15)

* 0.1 ml of saline solution containing 0.5% of carboxymethylcellulose was administered.

Table III—Relationship between effective interval time and decrease percentage of sarcoma 180

Comp. No.	60% Decrease interval(hr)	M.D.*(%)
R-I	6—8	50
R-II	6—7	60
R-III	7—12	70
R-IV	3—5	70
R-V	45—60	30
R-VI	60—70	40
R-VI	60—65	30

* M.D.; Maximum Decrease

考 察

1. 2,4-Dihydroxy-5-nitroacetophenone의 合成에 있어서 Omer⁵⁾ 등은 混酸에 依하지 않는 nitration을 報告하고 있으나 著者は 混酸을 使用하므로서 反應時間의 短縮과 收率의 增大를 期할 수 있다고 思料된다.

2. 合成物質의 抗腫瘍試驗은 S-180 및 Ehrlich에 對한 生存效果試驗 및 細胞數變動試驗을 遂行하였으나 Leukemia 1210에 對한 抗腫瘍試驗 및 *in vitro* method에 依한 抗腫瘍試驗은 補充하고자 한다.

3. 生存試驗에 있어 R-V, R-VI 및 R-VII 등이 比較的 良好한 成績을 나타낸 것은 Billman³⁾ 및 Kahn⁴⁾ 등의 2-amino-2-methylpropanol의 抗腫瘍性에 基因한다고 思料되며 著者 등이 合成한 物質과 越浦 등이 制癌劑로 報告한 4-amino-6-*n*-hexylresorcinol과의 構造上의 類似點과 抗腫瘍作用上의 類似點은 興味있는 現象으로 앞으로 繼續하여 이 系統의 合成 實驗을 追求할 必要가 있다고 思料된다.

結 論

1. Resacetophenone의 誘導體로서 β -substituted-2,4-dihydroxy-5-nitropropiofenone 7種을 potential anti-neoplastic agent로서 合成하였다.

2. 合成物質의 抗腫瘍試驗으로서 Ehrlich 및 S-180을 各各 腹腔內에 移植한 dd系 mouse(우)에 對하여 生存效果 및 細胞數變動試驗을 遂行한 結果, β -(1-methyl-1-hydroxymethyl) ethylamino-2,4-dihydroxy-5-nitropropiofenone(V), β -(1,1-dihydroxymethyl) ethylamino-2,4-dihydroxy-5-nitropropiofenone(VI), β -(1,1-dihydroxymethyl) propylamino-2,4-

dihydroxy-5-nitropropiophenone(VII)이 生存試驗에서 有効로 判定되었다(Table II, III).

本 研究을 遂行함에 있어 合成實驗에 協助하여 준 李晶坡碩士와 元素分析을 맡아 주신 朴萬基講師에게 深謝하고 實驗動物 및 實驗腫瘍을 周旋하여 주신 大阪大學藥學部 合成化學教室 金重協碩士에게 謝意를 表한다.

文 獻

1. W.K. Chung, *Seoul Univ. J.* (C) 18—1967
2. R. Koshiura *et al.*, *The Proceedings of the 28th Annual Meeting of Sap. Cancer Assoc.*, p-218.
3. J. H. Billman, *et al.*, *J. Pharm. Sci.*, 58, 767(1969)
4. J. H. Billman and M.S. Kahn, *J. Med. Chem.*, 11, 312(1968)
5. R. E. Omer, *J. Am. Chem Soc.*, 59, 642(1937)
6. M. Ishidate, *et al.*, *Gann.*, 46, 469, 475(1955)
7. Y. Arai, *et al.*, *J. Pharm. Soc. Jap.*, 88, 56(1968)