

새로운 5-치환 Uracil 유도체의 합성 및 생물활성

이원희 · 박정섭 · 원정희 · 이정옥* · 유응걸*

충북대학교 약학대학, *한국화학연구소

(Received October 29, 1991)

Synthesis and Biological Activities of New 5-Substituted Uracil Derivatives

Won Hui Yi, Jung Sup Park, Jeong Hee Won, Chong Ock Lee* and Eung K. Ryu*

College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju, Chungbuk 360-763, Korea

*Korea Research Institute of Chemical Technology, Taedog-Tanji, Taejeon 305-606, Korea

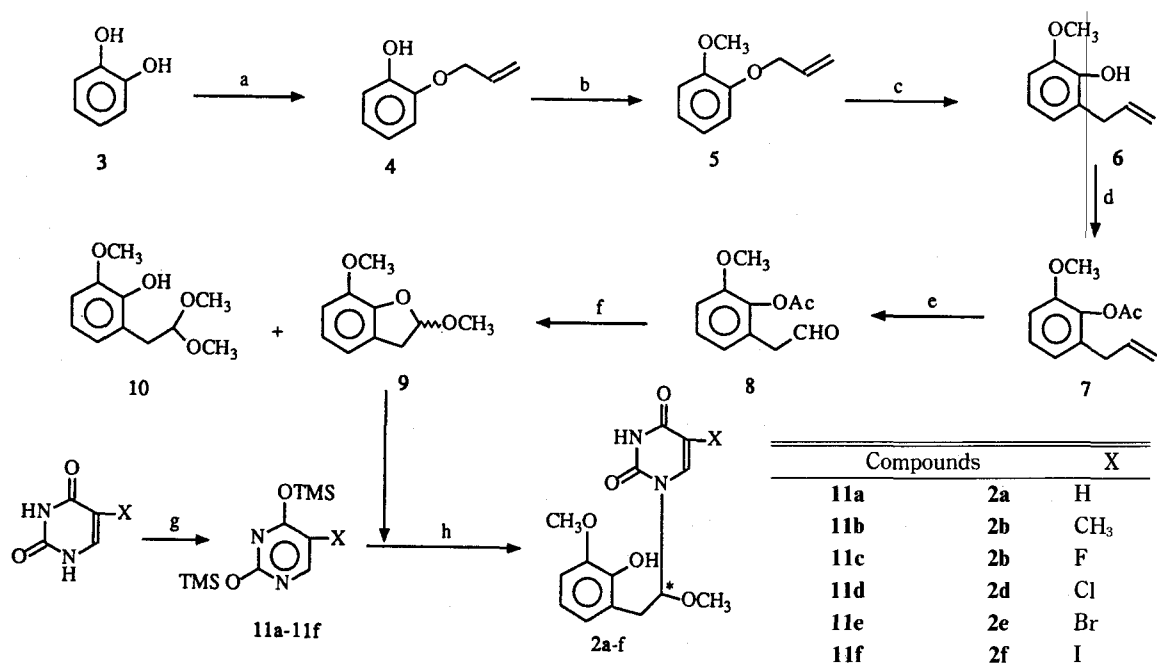
Abstract—Six novel 5-substituted-1-[2-(3-methoxy-2-hydroxyphenyl)-1-methoxyethyl]uracils **2a-f** were prepared by condensation of 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-substituted uracils with 2,7-dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (**9**) in the presence of Lewis acid. The 2,3-dihydrobenzofuran derivative **9** was obtained by intramolecular acetalization of 2-acetoxy-3-methoxyphenyl acetaldehyde (**8**) which was synthesized by oxidative cleavage of 1-allyl-2-acetoxy-3-methoxybenzene (**7**) using osmium tetroxide followed by NaIO₄. Compounds **2a-f** were evaluated for *in vitro* antiviral activity against HSV-1, HSV-2 and HRV. None of these compounds showed activity with ID₅₀ values up to 100 µg/ml except for 5-chlorouracil derivative **2d** which exhibited antiviral activity against HSV-1 with ED₅₀ 30 µg/ml. In the antitumor activity against L1210 and P388 leukemia cell lines, **2d** showed activity with ID₅₀ values of 14 µg/ml and 11.6 µg/ml, and **2c** with ID₅₀ values of 22.9 µg/ml and 8.8 µg/ml, respectively.

Keywords □ 5-Substituted-1-[2-(3-methoxy-2-hydroxyphenyl)-1-methoxyethyl]uracils, antiviral activity, antitumor activity.

항바이러스 및 항암효과를 목적으로 한 변형된 천연 nucleosides의 구조-활성연구가 활발히 진행되었으며,¹⁾ 특히 acyclic 형태의 헤르피스 치료제인 acyclovir²⁾가 합성된 이래 糖구조를 변형시킨 nucleoside 유사체의 합성 및 그 생물 활성연구에 관해서 많이 보고되었다. Thymidine의 3' 위치에 azide기를 치환한 3'-azido-2', 3'-dideoxythymidine(AZT)³⁾은 viral reverse transcriptase에 적용하여 human immunodeficiency virus (HIV)의 증식을 억제하며 현재 후천성면역결핍증 (AIDS, acquired immunodeficiency syndrome)의 치료제로 이용되고 있다. 2',3'-Dideoxy 유도체인 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine(d4T)⁴⁾과 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrocytidine(d4C)⁵⁾ 그리고 6-phenylthio 유도체인 1-[(2-hydroxyethoxy)methyl]-6-

(phenylthio)thymine(HEPT)⁶⁾ 등이 HIV에 억제효과가 있음이 보고되었고, 5-fluorouracil의 생체내 흡수와 분포성을 증가시킨 형태의 항암제인 Futorafur⁷⁾와 N₁-phthalidyl-5-fluorouracil(1-PFU)⁸⁾ 등이 보고되었다.

본 연구에서는 uracil nucleoside의 당 부분을 변형함으로써 항바이러스 및 항암작용에 미치는 영향을 고찰하고자 5-치환, 2'-deoxyuridine의 3'과 5'위치 사이에 phenyl기를 도입하여 당 구조를 변형시킨 분자구조 1을 설계하고 합성을 시도하였다. 그러나 합성과정 중 수행한 반응조건하에서는 원하는 물질을 얻지 못하였고 그와 유사한 acyclic 형태의 화합물 **2a-f**을 얻었으며(Scheme I), 이들 화합물에 대한 항암 작용과 항바이러스 활성을 검색한 결과 예상외로 화



Scheme I—(a) allyl bromide (1 eq.), K₂CO₃; (b) Me₂SO₄, NaOH; (c) N,N-dimethylaniline, 220°C; (d) Ac₂O, Pyridine, r.t.; (e) OsO₄, NaIO₄; (f) HCl(g), MeOH; (g) HMDS, (NH₄)SO₄(Cat.); (h) SnCl₄, 1,2-dichloroethane

합물 **2c**와 **2d**가 효과가 있었으므로 이에 보고한다.

실험방법

기기, 재료 및 시약—용접은 Thomas Hoover사의 모세관 용접측정장치를, 비접은 Aldrich사의 micro-distillation 장치를 사용하여 측정하였으며, 온도계는 보정하지 않았다. ¹H-NMR 스펙트럼은 TMS를 내부 표준물질로 하여 JEOL사의 PMX-60SI model(60 MHz)과 Bruker사의 Spectra-3000 model(300 MHz)을 사용하였으며, MS 스펙트럼은 Shimadzu사의 GC/MS-Qp1000 model을 사용하여 얻었다. TLC와 컬럼크로마토그래피는 Merck사의 Kieselgel 60F 또는 silica gel(70~230 mesh)을 사용하였으며 전개용매로는 *n*-hexane/Et₂O 또는 CHCl₃/MeOH의 혼합용매를 사용하였다. 시약은 주로 Aldrich사와 Sigma사의 제품을 사용하였으며, 용매류는 일반적인 방법으로 정제하여 사용하였다.

2-Allyloxypheol (4)의 합성⁹⁾—무수 acetone 60 ml와 pyrocatechol (3) 33g(0.3 mol), 무수 K₂CO₃ 49.8

g(0.36 mol)의 현탁액을 환류하면서 allyl bromide 36.3g(0.3 mol)을 소량씩 가한 다음, 이에 DMF 20 ml를 가하고 7시간 계속 환류하였다. 불용성염을 여과제거하고 여액을 감압농축 후 잔류물을 Et₂O(300 ml)와 5%-NaOH 수용액(150 ml×2)으로 추출하였다. 수층을 분리하여 CHCl₃로 세척(100 ml×2)한 후, 묽은 HCl 수용액으로 천천히 중화하고 Et₂O(100 ml×2)로 추출한 다음 증류수(105 ml×3)로 세척하였다. Et₂O 층을 무수 MgSO₄로 건조하고 용매를 제거하여 생긴 갈색 유상물질을 감압증류하여 무색액상의 목적물 38.7g(86%)을 얻었다. 비점: 107~109°C/15 mmHg(lit.⁹⁾ 107.5~109°C/15 mmHg); ¹H NMR(CDCl₃+D₂O): δ 6.9(m, 4H, aromatic), 5.9(m, 1H, -CH=), 5.1(t, J=8 Hz, 2H, O-CH₂-), 4.4(t, 2H, J=6 Hz, C=CH₂), 2.8(DOH).

2-Allyloxymethoxybenzene (5)의 합성

제 1합성법⁹⁾—2-Allyloxypheol (4) 45g(0.3 mol)을 2N NaOH 수용액 150 ml에 용해하고, 교반하면서 dimethyl sulfate 45.4g(1.2 mol)을 소량씩 적가했다. 적가완료 후 욕탕의 온도를 50°C로 유지하면서 30분간

더 교반하고, 실온으로 냉각 후 Et_2O (200 ml \times 2)로 추출하였다. 유기용매층을 10% NaOH 수용액과 증류수로 세척(150 ml \times 2) 하고 무수 Na_2SO_4 로 건조 후 용매를 제거하여 짙은 갈색 액상물질을 얻었다. 이를 감압증류하여 무색액상의 목적물 33g(67.0%)을 얻었다.

제 2 합성법¹⁰⁾ - 무수 acetone 1l와 guaiacol 150g (0.76 mol), 무수 K_2CO_3 분말 116.9g(0.53 mol)을 가하여 현탁액으로 한 후, allyl bromide 160.8g(0.84 mol)을 소량씩 가한 후 18시간 환류하였다. 불용성염을 여과제거하고 용매를 제거하여 얻은 갈색 잔류물을 분별증류(column size : 1 \times 5 cm, glass ball)하여 무색액상의 목적물 163.17g(82.2%)을 얻었다. 비점 : 70~73°C/1 mmHg(lit.,¹⁰⁾ 143.5~146°C/15 mmHg; ^1H NMR(CDCl_3) : δ 6.9~7.1(m, 3H, aromatic), 6.0~6.1(m, 1H, -CH=), 5.1(d, J=8 Hz, 2H, C=CH₂), 4.5(d, J=4 Hz, 2H, -CH₂-), 3.8(s, 3H, methoxy).

2-Allyl-6-methoxyphenol (6)의 합성¹⁰⁾ - 2-Allyloxymethoxybenzene (5) 100g(0.61 mol)을 N,N-dimethylaniline 200 ml에 가하고, 질소가스 중에서 사육을 사용하여 200°C로 5시간 환류시켰다. 실온으로 냉각하여 dimethylaniline을 감압 제거하고 남은 황색 액상물질을 분별증류하여 무색액상의 목적물 79g(79%)을 얻었다. 비점 : 78~79°C/0.5 mmHg; ^1H NMR(CDCl_3) : δ 6.9~7.1(m, 3H, aromatic), 6.0~6.1(m, 1H, -CH=), 5.2(d, J=8 Hz, 2H, C=CH₂), 3.9(s, 3H, methoxy), 3.5(d, J=6 Hz, 2H, -CH₂-).

2-Acetoxy-3-allylmethoxybenzene (7)의 합성 - 2-Allyl-6-methoxyphenol (6) 41g(0.25 mol), 무수 pyridine 39.5g을 무수 CH_2Cl_2 250 ml에 가한 후 교반하면서 Ac_2O 33.1g(0.33 mol)을 가하고, 실온에서 20시간 교반하였다. 증류수(200 ml)를 가하고 Et_2O (150 ml \times 2)로 추출하여, 유기용매층을 증류수(100 ml \times 3)로 세척, 무수 MgSO_4 로 건조하고 용매를 감압제거하여 얻은 액상물질을 감압증류하여 무색액상의 목적물 46.6g(89.6%)을 얻었다. 비점 : 99~100°C/0.2 mmHg; ^1H NMR(CDCl_3) : δ 6.9~7.1(m, 3H, aromatic), 5.9(m, 1H, -CH=), 5.1(d, J=8 Hz, 2H, C=CH₂), 3.9(s, 3H, methoxy), 3.4(d, J=6 Hz, 2H, -CH₂-), 2.3(s, 3H, acetoxy).

2-Acetoxy-3-methoxyphenylacetaldehyde (8)의 합성 - 2-Acetoxy-3-methoxyallylbenzene (7) 25g(0.12

mol)을 脱氣한 ethyl acetate 150 ml와 증류수 100 ml의 혼합액에 용해하고 osmium tetroxide 0.2g을 가하고 30분간 질소가스 중 실온에서 교반하였다. 반응액에 sodium periodate 77.8g(0.36 mol)을 2시간에 걸쳐 천천히 가하고 4시간 교반한 후 brine(50 ml)을 가하여 ethyl acetate로 추출(100 ml \times 2)하고, 용매를 감압제거하여 짙은 암갈색의 잔류물을 얻었다. 이 잔류물질을 silica gel 컬럼크로마토그래프로 정제하여 미황색 액상의 목적물 9.5g(38%)을 얻었다. ^1H NMR(CDCl_3) : δ 9.8(m, 1H, CHO), 7.0~7.2(m, 3H, aromatic), 3.9(s, 3H, methoxy), 3.7(d, J=3 Hz, 2H, -CH₂-), 2.3(s, 3H, acetoxy).

2,7-Dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9)의 합성 - 2-Acetoxy-3-methoxyphenylacetaldehyde (8) 8.5g (40.8 mmol)을 3N methanol성 HCl 25 ml에 용해하여 질소가스 중 실온에서 4시간 교반하였다. 반응액을 5% NaHCO_3 수용액으로 중화한 후 brine(30 ml)을 가하고 Et_2O 로 추출(50 ml \times 2)한 후 유기용매층을 분리하여 무수 MgSO_4 로 건조하고 용매를 감압제거하여 짙은 갈색의 액상물질을 얻었다. 이를 silica gel 컬럼크로마토그래피로 분리정제하여 무색액상의 목적물 (9) 1.98g(27%)와 백색 반고형의 dimethylacetal체 (10) 1.2g을 얻었다.

화합물 (9) - ^1H NMR(CDCl_3) : δ 6.9~7.0(m, 3H, aromatic), 5.7(q, J=2.24 Hz, 1H, 2-H), 3.9(s, 3H, 7-methoxy), 3.6(s, 3H, 2-methoxy), 3.4(q, J₁=8.51, J₂=6.64, 2H, -CH₂-).

화합물 (10) - 융점 : 47.5~48°C; ^1H NMR(CDCl_3) δ 6.7~6.9(m, 3H, aromatic), 6.5(s, 1H, OH), 4.8(t, J=5 Hz, 1H, -CH<), 3.9(s, 3H, ϕ -methoxy) 3.4(s, 6H, (OCH₃)₂), 3.5(d, J=5 Hz, 2H, -CH₂-).

2,4-Bis(trimethylsilyloxy)uracil (11a)의 합성¹¹⁾ - Uracil 10g(89.2 mmol)와 ammonium sulfate 0.3g을 hexamethyldisilazane(HMDS) 30 ml에 현탁시켜 질소가스 중에서 4시간 환류시켰다. 투명해진 반응액을 실온으로 냉각하여 HMDS를 감압제거한 후, 감압증류하여 무색액상의 목적물 20g(87.8%)을 얻었다. 비점 : 115°C/12 mmHg.

2,4-Bis(trimethylsilyloxy)thymine (11b)의 합성 - Thymine 10.0g(79.3 mmol)을 11a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 무색액상의 목적물 20.5g(95.6%)을 얻었다. 비점 : 77~77.5°C/0.25 mmHg.

2,4-Bis(trimethylsilyloxy)-5-fluorouracil (11c)의 합성—5-Fluorouracil 2.02g(15.6 mmol)을 11a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 무색액상의 목적물 3.4g(79.4%)을 얻었다. 비점: 84~85°C/0.5 mmHg.

2,4-Bis(trimethylsilyloxy)-5-chlorouracil (11d)의 합성—5-Chlorouracil 1.3g(8.87 mmol)을 11a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 미황색 액상의 목적물 2.1g(81.4%)을 얻었다. 비점: 88~89°C/0.5 mmHg.

2,4-Bis(trimethylsilyloxy)-5-bromouracil (11e)의 합성—5-Bromouracil 10g(52.36 mmol)을 11a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 무색액상의 목적물 17.26g(98.3%)을 얻었다. 비점: 80°C/0.5 mmHg.

2,4-Bis(trimethylsilyloxy)-5-iodouracil (11f)의 합성—5-Iodouracil 8.0g(33.62 mmol)을 11a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 미황색의 액상 목적물 11.8g(91.8%)을 얻었다. 비점: 105~106°C/0.4 mmHg.

1-[2-(3-Methoxy-2-hydroxyphenyl)-1-methoxyethyl]uracil (2a)의 합성—2,7-Dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9) 0.5g(2.8 mmol)을 무수 1,2-dichloroethane 30 ml에 용해하고 2,4-bis(trimethylsilyloxy)uracil (11a) 0.8g(3.08 mmol)을 가한 후 SnCl₄ 0.8g(3.08 mmol)을 syringe를 통하여 30분에 걸쳐 소량씩 천천히 가했다. 반응액을 질소가스 중 실온에서 4시간 교반후 10% KF 수용액(10 ml)과 10% NaHCO₃ 수용액(10 ml)을 가하여 10분간 교반하였다. CHCl₃으로 추출(50 ml×2)하고 증류수로 세척(100 ml×2)한 후 무수 MgSO₄로 건조, 유기용매를 감압 제거하여 반고형의 물질을 얻었다. 이를 silica gel 컬럼크로마토그래피(CHCl₃/CH₃OH, 20/1)로 정제하여 백색 고형의 목적물 0.34g(42%)을 얻었다. ¹H NMR(CDCl₃): δ 7.2(d, 1H, 6-H), 6.7~6.6(m, 3H, aromatic), 5.9(dd, 1H, 1'-H), 5.8(d, 1H, 5-H), 3.9(s, 3H, Ar-OCH₃), 3.3(s, 3H, 1'-OCH₃), 3.1(dd, 2H, -CH₂-).

1-[2-(3-Methoxy-2-hydroxyphenyl)-1-methoxyethyl] thymine (2b)의 합성—2,7-Dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9) 0.5g(2.8 mmol)과 2,4-bis(trimethylsilyloxy)thymine (11b) 0.8g(3.08 mmol)을 2a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 백색고형의 목적물 0.2g(25%)을 얻었다. 융점: 163~164°C(dec.); ¹H NMR(CDCl₃): δ 7.3(s, 1H, 6-H), 6.7~6.6(m, 3H, aromatic), 5.9(dd, 1H, 1'-H), 3.9(s, 3H, Ar-OCH₃),

3.3(s, 3H, 1'-OCH₃), 3.1(dd, 2H, -CH₂-).

1-[2-(3-Methoxy-2-hydroxyphenyl)-1-methoxyethyl]-5-fluorouracil (2c)의 합성—2,7-Dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9) 0.5g(2.8 mmol)과 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-fluorouracil (11c) 0.84g(3.08 mmol)을 2a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 백색 고형의 목적물 0.26g(30.2%)을 얻었다. ¹H NMR(CDCl₃): δ 7.3(s, 1H, 6-H), 6.7~6.6(m, 3H, aromatic), 5.8(d, 1H, 1'-H), 3.9(s, 3H, Ar-OCH₃), 3.3(s, 3H, 1'-OCH₃), 3.1(dd, 2H, -CH₂-).

1-[2-(3-Methoxy-2-hydroxyphenyl)-1-methoxyethyl]-5-chlorouracil (2d)의 합성—2,7-Dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9) 0.5g(2.75 mmol)과 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-chlorouracil (11d) 0.89g(3.03 mmol)을 2a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 백색 고형의 목적물 0.91g(45%)을 얻었다. ¹H NMR(CDCl₃): δ 7.6(s, 1H, 6-H), 6.7~6.6(m, 3H, aromatic), 5.9(dd, 1H, 1'-H), 3.9(s, 3H, Ar-OCH₃), 3.3(s, 3H, 1'-OCH₃), 3.1(dd, 2H, -CH₂-).

1-[2-(3-Methoxy-2-hydroxyphenyl)-1-methoxyethyl]-5-bromouracil (2e)의 합성—2,7-Dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9) 0.5g(2.78 mmol)과 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-bromouracil (11e) 1.02g(3.06 mmol)을 2a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 백색 고형의 목적물 0.64g(68.9%)을 얻었다. ¹H NMR(CDCl₃): δ 7.6(s, 1H, 6-H), 6.7~6.6(m, 3H, aromatic), 5.9(dd, 1H, 1'-H), 3.9(s, 3H, Ar-OCH₃), 3.3(s, 3H, 1'-OCH₃), 3.1(dd, 2H, -CH₂-).

1-[2-(3-Methoxy-2-hydroxyphenyl)-1-methoxyethyl]-5-iodouracil (2f)의 합성—2,7-Dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9) 0.8g(4.44 mmol)과 2,4-bis(trimethylsilyloxy)-5-iodouracil (11f) 2.2g(5.77 mmol)을 2a의 제법과 같은 방법으로 반응시켜 백색 고형의 목적물 1.1g(64.7%)을 얻었다. ¹H NMR(CDCl₃): δ 7.6(s, 1H, 6-H), 6.7~6.5(m, 3H, aromatic), 5.9(dd, 1H, 1'-H), 3.9(s, 3H, Ar-OCH₃), 3.3(s, 3H, 1'-OCH₃), 3.1(dd, 2H, -CH₂-).

In vitro 항바이러스 작용—항바이러스 효과는 조직 배양을 이용한 plague reduction assay¹²⁾에 의하여 HSV-1, HSV-2와 HRV에 대한 plague reduction(ED₅₀)을 검색하였다. 숙주세포는 HeLa cell(Human cervix epitheloid carcinoma cell)과 Vero cell(African

green monkey kidney cell)을 사용하였으며, 바이러스種은 Herpes simplex virus type 1(HSV-1) strain F, Herpes simplex virus type 2(HSV-2) strain G와 Human rhinovirus(HRV) type 1B strain B632를 사용하였다. 기초배지로는 EMEM(Eagle's minimum essential medium, Gibco)과 DMEM(Dulbecco's modification of eagle's medium, Gibco)을 사용하였다.

24-well plate에 숙주세포(HeLa, Vero cell)를 2~3일간 배양하여 monolayer를 만들고, 각 well당 100~200 PFU(plaque forming unit)의 MOI(multiplicities of infection)을 갖는 바이러스용액 0.1 ml씩을 가하여 50~60분간 37°C에서 흡착시켰다. 0.8%의 gum tragacanth가 포함된 여러 농도(10, 50, 100 µg/ml)의 합성화합물과 배지혼합물을 1 ml씩 가하여 37°C, 3일간 배양한 후, 세포를 fix, strain하여 plaque의 수를 세고, 대조군과 비교하여 plaque reduction(%)를 구하였다.

% reduction =

$$\frac{\text{No. of plaque(control)} - \text{No. of plaque(tested)}}{\text{No. of plaque(control)}} \times 100$$

In vitro 항암작용 - 항암효과는 Dye exclusion method³⁾를 이용하여 tumor cell의 growth inhibition (ID₅₀)을 검색하였다. Tumor cell은 mouse tumor cell line인 L1210(Lymphocytic leukemia)과 P388(Lymphoid neoplasm)을, 기초배지는 10%의 FBS(Fetal bovine serum, Gibco)가 포함된 RPMI 1640 medium(Roswell Park Memorial Institute medium 1640, Gibco)을 사용했으며, 표준약물로 Ara-C, 5-FU, 5-Fluoro-2'-deoxyuridine, Futorafur, cis platin 등을 사용하였다. L1210, P388 tumor cell을 위 배지에서 배양하여 cell의 농도가 1×10⁵ cells/ml이 되도록 조절하였다. 이에 log dose로 희석된 각 농도의 합성 화합물을 각각 가하고 37°C, 5% CO₂ incubator에서 배양하여 24, 48 및 72시간에 viable cell number를 측정하였다. viable cell number는 trypan blue를 이용하여 dye exclusion test를 실시하여 측정하였다. 측정된 세포 수로부터 대조군과 비교하여 50% cell growth inhibition을 나타내는 각 화합물의 농도(IC₅₀)을 산출하였다.

실험결과 및 고찰

5-치환 uracil 유도체의 합성 - 출발물질 catechol (3)을 기존의 방법⁹⁾으로 allyl bromide와 반응시켜 monoallyl ether 4를 얻었고(85%), hydroxy기를 dimethyl sulfate로 methylation하여 methyl ether 5를 얻었다(67%). 2-Allyloxymethoxybenzene (5)은 다른 방법,¹⁰⁾ 즉 guaiacol에 allyl bromide를 반응시켜 더욱 높은 수율(82%)로 얻을 수 있었다. 화합물 5를 N,N-dimethylaniline 하에서 Claisen 전위¹⁴⁾시켜 2-allyl-6-methoxyphenol (6)을 얻었다(80%). 용매를 사용하지 않고 전위반응을 진행시킬 경우 부산물로 3-allyl 형태의 화합물과 tar상 물질이 주로 생성되어 원하는 물질의 수율이 매우 저조하였다. Hydroxy기를 deprotecting이 유리한 ester화한 화합물을 합성하여 반응한 결과 이 전위반응 조건하에서 쉽게 분해되었다. Acetic anhydride를 사용하여 acetylation하여 7을 95%의 수율로 얻었고, osmium tetroxide 촉매 존재하에 sodium periodate로 이중결합을 산화분해하여 phenylacetaldehyde 8을 얻었다(40%).¹⁵⁾ Ozonolysis에 의한 이중결합의 aldehyde로의 전환방법¹⁶⁾을 시도하였으나 원치않는 다른 화합물이 생성되었으며, 2-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde로부터 Darzen's reaction¹⁷⁾을 이용하여 탄소수가 1개 증가된 phenylacetaldehyde를 합성코자 하였으나 역시 적합하지 못하였다.

저자 등은 화합물 5에서 분자내 acetal이 형성¹⁸⁾될 수 있다는 생각으로, 산 존재하에서 acetyl기의 제거와 동시에 acetal의 형성을 시도하였다. Methanol에 HCl을 녹인 용액을 실온에서 4~5시간 반응시킨 결과 7-methoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9)과 dimethyl acetal 10이 비슷한 수율(20~30%)로 얻어졌다.

5-치환 uracil 유도체를 ammonium sulfate 촉매 하에 hexamethyldisilazane(HMDS)으로 silylation하여 액상의 disilylated uracil 11a-f을 합성하고(80~95%),¹¹⁾ 이들을 SnCl₄를 촉매로 사용하여 2,7-dimethoxy-2,3-dihydrobenzofuran (9)과 축합시켜 새로운 acyclic nucleoside 유도체 6종 2a-f을 얻었다. Acetal 9의 methoxy기가 제거되어 benzofuranyl 형태의 nucleoside 1이 형성될 것으로 예상하였으나, phenyloxy기가 더욱 우세하게 leaving기로 작용하여 acyclic 형태의 화합물 2a-f가 형성되었다.

In vitro 항바이러스 및 항암작용 - 새로이 합성한 uracil 유도체 2a-f에 대한 항바이러스 실험결과는 Table I과 같다. 예상외로 uracil 고리의 5-위치에 불소

Table I—Antiviral activities of new nucleoside derivatives

Compds.	ED ₅₀ (μg/ml)		
	HSV-1/Vero	HSV-2/Vero	HRV LB/HeLa
2a	80	>100	NT*
2b	>100	>100	NT*
2c	95	>100	>100
2d	30.3	>100	>100
2e	75	>100	>100
2f	>100	>100	NT*
acyclovir	0.01	NT*	NT*

*NT : Not Tested

Table II—Antitumor activities of new nucleoside derivatives

Compds.	ID ₅₀ (μg/ml)	
	L1210	P388
2a	>80	>80
2b	>80	>80
2c	22.9	8.8
2d	14.0	11.6
2e	159.0	192.5
2f	75.7	85.5
5-Fluoro-2'-deoxyuridine	0.04	0.036
Futorafur	121.0	92.0

또는 요오드 원자가 치환된 화합물 **2b**와 **2f**는 ED₅₀ 100 μg/ml로 효과가 없었으며, 염소원자가 치환된 **2d**는 HSV-1에 대하여 ED₅₀가 30 μg/ml로 가장 좋았다. 그러나 acyclovir을 표준물질로 사용하였을 때 이 system에서 0.01 μg/ml의 ED₅₀를 갖는 것에 비하면 효과가 낮았다.

항암작용 시험결과는 Table II와 같으며, P388 tumor cell line에 대해서 5-fluoro 치환 uracil 화합물 **2c**는 ID₅₀가 8.8 μg/ml 그리고 L1210 tumor cell line에 대하여 22.9 μg/ml를 나타냈다. 5-Chloro 치환 uracil 화합물 **2d**가 L1210 및 P388에 대하여 각각 ID₅₀가 14 μg/ml 및 11.6 μg/ml로서 위암치료제인 futorafur 보다는 8~10배 더 높은 값을 보였고 5-fluoro-2'-deoxyuridine에 비하여 그 항암작용이 크게 떨어지나 선도물질로서 관심을 끌게한다.

결 론

Catechol을 출발물질로 하여 새로운 화합물 2,7-di-

methoxy-2,3-dihydrobenzofuran (**9**)을 합성하였으며, 이를 중간체로 하여 새로운 acyclic uracil nucleoside 유사체 6종 **2a-f**을 합성하였다.

HSV-1, HSV-2 및 HRV에 대한 *in vitro* 항바이러스 시험에서 특히 5-chloro 치환 uracil 유도체 **2d**는 약간의 항바이러스 작용을 나타냈다. L1210 및 P388 tumor cell line에 대한 *in vitro* 항암작용시험에서 5-fluoro 및 5-chloro 치환 uracil 유도체 **2c**, **2d**는 상당한 효과를 보였다. 이와 같이 5-치환 pyrimidine nucleoside의 당부위를 2-(3-methoxy-2-hydroxyphenyl) methoxyethyl기로 치환한 화합물이 예상외로 항암, 항바이러스 작용을 보여줌으로써 새로운 선도물질로 인정되며 이를 여러모로 변형시킨 유사체의 합성과 이들 화합물의 항바이러스 및 항암효과가 기대된다.

감사의 말씀

본 연구의 일부는 충북대학교 학술연구재단 1990년도 대학지원 연구비로 이루어졌으며, 이에 깊은 感謝를 드립니다.

문 헌

- 1) Eggers, H.J.: In "Antiviral Drug Development", ed. by E.De Clerq and R.T. Walker, NATO ASI Series. A, Plenum press (New York) (1988).
- 2) Schaeffer, H.J., Beauchamp, L. de Miranda, P., Elion, G., Bauer, D.J. and Collins, P.: 9-(2-Hydroxyethoxymethyl) guanine activity against viruses of the herpes group. *Nature* **272**, 583(1978).
- 3) Linski, R.P., Samikhan, M. Kalamas, R.L. and Sporn, M.B.: Nucleotide synthesis. IV. phosphorylated 3'-Amino-3'-deoxy-thymidine and 5'-amino-5'-deoxythymidine and derivatives. *J. Org. Chem.* **38**, 4299(1978).
- 4) Mansuri, M.M., Starrett, J.E., Ghazzouli, Jr, I., Hitchcock, M.J.M., Sterzycki, R.Z., Brankovan, V., Lin, T., August, E.M., Prusoff, W.H., Sommadossi, J. and Martin, J.C.: 1-(2,3-Dideoxy-β-D-glycero-pent-2-enofuranosyl) thymine. A highly potent and selective anti-HIV agent. *J. Med. Chem.* **32**, 461(1989).
- 5) Horwitz, J.P., Chua, J., Noel, M. and Donatti, J.T.: Nucleosides. XI. 2',3'-dideoxycytidine. *J. Org.*

- Chem.* **32**, 817(1967).
- 6) Myasaka, T., Tanaka, H., Baba, M., Hayakawa, H., Walker, R.T., Balzarini, J. and De Clercq, E.: A novel lead for specific anti-HIV-1 agents: 1-[(2-Hydroxyethoxy)methyl]-6-(phenylthio) thymine. *J. Med. Chem.* **32**, 2507(1989).
 - 7) Yasumoto, M., Moryama, A., Unemi, N., Hashimoto S. and Suzue, T.: Studies of antitumor agents. 1. Resolution of racemic 1-(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluorouracil into the R and S isomers and examination of the biological activities of the isomers. *J. Med. Chem.* **20**, 1592(1977).
 - 8) Kametani, T.: Studies on the synthesis of chemotherapeutics. 10. synthesis and antitumor activity of N-Acyl- and N-(alkoxycarbonyl)-5-fluorouracil derivatives. *J. Med. Chem.* **23**, 1324(1980).
 - 9) Hurd, C.D., Greengard, H. and Pilgrim, F.D.: The behavior of allyl derivatives of catechol and resorcinol toward heat (JACS). *J. Am. Chem. Soc.* **52**, 1700(1930); Perkin, W.H. Jr. and Trikojus, V.M.: A synthesis of safrole and o-safrole (JCS). *J. Chem. Soc.* **131**, 1613(1927).
 - 10) Allen, C.F.H., J.W. and Gates Jr.: o-Eugenol. *Org. Syn. Col. Vol.* **3**, 418(1955).
 - 11) Nishimura, T. and Iwai, I.: Synthetic nucleosides I. trimethylsilyl derivatives of pyrimidines and purines. *Chem. Pharm. Bull.* (Tokyo), **12**, 352(1964).
 - 12) Biron, K.K. and Elion, G.B.: In vitro susceptibility of *Varicella zoster* virus to acyclovir. *Antimicrob. Agents Chemother.* **18**, 443-447(1980).
 - 13) Alley, M.C., Scudiero, D.A., Monks, A., Hursey, M. L., Czerwinski, M.J., Fine, D.L., Abbott, B.J., Mayo, J.B., Shoemaker, R.H. and Boyd, M.R.: Feasibility of drug screening with panels of human tumor cell lines using a microculture tetrazolium assay. *Cancer Res.* **48**, 589(1988).
 - 14) Lutz, R.P.: Catalysis of the cope and claisen rearrangements *Chem. Rev.* **84**, 205(1984).
 - 15) Falling, S.N. and Raport, H.: Routes to mitomycins. application of iminium salts to the synthesis of naphthoquinone mitomycin analogues *J. Org. Chem.* **45**, 1260(1980).
 - 16) Philip, S.B.: *Chem. Rev.*, **57**, 925-1010(1957); Paul, R.S., Alford, J.A., Burgess, J.R. and Ray, W.C.: Mechanisms of ozonolysis. reductive ozonolysis with aldehydes and ketones *J. Am. Chem. Soc.* 3042-3044(1971).
 - 17) Shiner, V.J. Jr. and Martin, B.: The mechanism of decarboxylation of glycidic acids *J. Am. Chem. Soc.* **84**, 4824(1962).
 - 18) Büchi, G. and Weinrab, S.M.: Halogen abstraction studies. II. Free-Radical Abstraction of iodine from aliphatic iodides. evidence to support archimelic assistance by neighboring halogen in homolytic reactions *J. Am. Chem. Soc.* **93**, 716(1971).