

새로운 사이클로프로필 뉴클레오사이드 유도체의 합성과 생리활성

강진아[†] · 천부순^{*†} · 문형룡[#]

부산대학교 약학대학, *인제대학교 약학대학

(Received July 16, 2012; Revised August 1, 2012; Accepted August 9, 2012)

Synthesis of Novel Cyclopropyl Nucleoside Derivatives as Potential Antiherpetic Agent

Jin-Ah Kang[†], Pusoon Chun^{*†} and Hyung Ryong Moon[#]

College of Pharmacy, Laboratory of Medicinal Chemistry, Pusan National University, Busan 609-735, Korea

*College of Pharmacy, Inje University, Gimhae, Gyeongnam 621-749, Korea

Abstract — Synthesis of novel cyclopropyl pyrimidine and purine nucleoside derivatives **2**~**8** with α -configuration was successfully accomplished using an epoxide-ring opening reaction, lactonization, a hydroboration-oxidation reaction and a Mitsunobu reaction as the key steps. Antiviral activities against HSV-1 and -2, HIV-1 and -2, coxsackie B1 and B3 viruses and poliovirus were assayed. Three compounds **4**, **7** and **8** exhibit cytotoxicity-derived antiviral activity only in HIV-1 and -2.

Keywords □ HSV, nucleosides, Mitsunobu reaction, virus, α -configuration

단순포진 바이러스(herpes simplex virus, HSV)는 사람에 있어 약한 정도에서 심한 정도의 범위를 갖는 단순포진 질환을 야기시킨다. 특히, 에이즈 환자를 비롯한 면역력이 저하된 환자에 있어서는 생명을 위협할 수도 있다. 일단 HSV에 감염이 되면 HSV는 숙주의 후근 신경절에 잠복할 수 있는 능력을 가지게 되어 스트레스, 과로 및 면역력 저하 등의 원인으로 인해 HSV가 활성화되어 주로 입술 주위 혹은 생식기 주변에서 피부포진을 생성시킨다. 전염병 조사 보고서에 의하면, HSV 감염율은 대부분의 나라에서 계속하여 꾸준히 증가하고 있다고 한다.

Acyclovir(ACV, Fig. 1)¹⁾가 HSV-1 및 -2에 매우 우수한 저해 활성을 나타낸다는 보고 이후, 수 많은 의약화학자들은 비환형(acyclic) 뉴클레오사이드 및 작은 환(3 내지 4)을 갖는 뉴클레오사이드 유도체를 합성하는 데에 연구력을 집중해 왔다. 그 결과 penciclovir(PCV), ganciclovir(GCV), cyclobut-G, oxetanocin G 등의 많은 화합물들이 우수한 항 바이러스 활성을 갖는다는 것을 밝혔다. 현재 ACV, PCV 및 그들의 전구체(prodrug) 즉, valaciclovir와 famciclovir가 HSV 감염 치료에 사용되고 있다.²⁾

이들 약물들은 HSV에 선택적인 것으로 알려져 있는데, 이는 이들 약물들이 HSV가 가지고 있는 thymidine kinase(TK)에 의해 특이적으로 인산화되어 HSV에 감염된 세포에서만 활성 형태인 삼인산화 화합물로 전환될 수 있기 때문인 것으로 알려져 있다. 하지만 HSV의 TK 활성의 결핍, 변형된 TK구조에 따른 기질 구조의 변화 등에 의하여 ACV나 PCV와 같은 선택적인 HSV-1 저해제에 대하여 내성을 갖는 바이러스 출현 보고³⁻⁵⁾가 있으며, 또한 물에 대한 낮은 용해도와 조직으로의 낮은 흡수율에 기인한 낮은 경구 생체이용률, 그리고 잠복하고 있는 바이러스의 재활성화 등의 문제로 치료의 어려움이 있다. 따라서, 현재 사용하고 있는 HSV 저해제를 대체할 수 있는 더욱 효과적인 새로운 항바이러스제의 개발 연구가 여전히 필요하다.

사이클로부테인(cyclobutane) 환을 가지는 카보사이클릭(carbocyclic) 뉴클레오사이드인 cyclobut-G⁶⁾는 HSV-1, -2, VZV(varicella zoster virus, 대상포진 바이러스) 및 HCMV(human cytomegalovirus)를 포함하는 포진 바이러스에 대해 넓고도 매우 높은 저해활성을 나타내 주었다. Tsuji 등은 cyclobut-G를 모방하여 합성한 화합물 **1**⁷⁾이 우수한 HSV-1, -2 및 VZV에 대한 저해 활성을 갖는다는 것을 발견하였다. 또한 화합물 **1**은 ACV보다도 더욱 낮은 세포독성과 더 우수한 선택성을 나타내었다.

Cyclobut-G와 화합물 **1**은 공통적으로 매우 우수한 포진바이러스 저해활성을 나타내었지만 cyclobut-G의 경우에는 두 개

#본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 051-510-2815 (팩스) 051-513-6754
(E-mail) mhr108@pusan.ac.kr

[†]두 제1저자는 본 논문에 동일한 기여를 하였음.

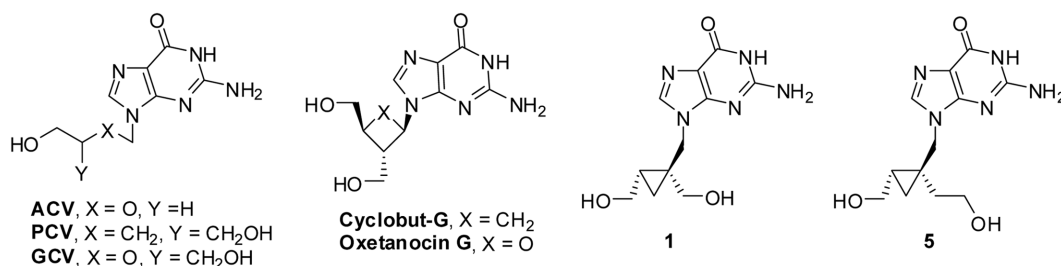


Fig. 1 – Structures of nucleosides with potent antiviral activity and 5, one of target nucleosides.

의 hydroxymethyl기가 사이클로부테인 환의 반대편에 서로 위치해 있는데 반하여, cyclobut-G의 구조를 모방하여 합성된 화합물 **1**의 경우에는 두 개의 hydroxymethyl기가 사이클로프로페인 환의 같은 편에 서로 위치해 있다. 항바이러스 활성을 나타내는데 있어 **5**의 수산기와 **3**'의 수산기의 거리가 매우 중요하게 작용하는 것으로 알려져 있으므로 화합물 **1**의 구조에서 두 개의 hydroxymethyl기 사이에 한 개의 methylene(CH₂)을 더 부가하여 선도물질인 cyclobut-G에서의 두 개의 hydroxymethyl기와 거리를 더욱 비슷하게 만들으로써 화합물 **1**의 항바이러스 활성을 더욱 높여 보고자 하였다.

실험재료 및 방법

시약 및 기기

모든 시약은 Sigma-Aldrich에서 구매하였으며, 더 이상의 정제 과정 없이 사용하였다. 녹는점은 보장하지 않았다. NMR 데이터는 Varian Unity INOVA 400 Spectrometer와 Varian Unity AS 500 Spectrometer를 사용하였고 NMR 용매로는 CDCl₃ 또는 DMSO-*d*₆를 사용하였으며, 화학적 이동값은 사용한 NMR 용매에 포함되어 있는 소량의 중수소화되지 않은 용매 피크를 기준(DMSO-*d*₆: H 2.49, C 40.0; CDCl₃: H 7.26, C 77.0)으로 ppm으로 나타내었다. 분석용 박층 크로마토그래피(TLC)는 Merck 제품인 실리카 겔 60F₂₅₄를 사용하였고, 일반 컬럼 크로마토그래피는 Merck 제품인 Kiesegel 60(230~400 Mesh)를 사용하였다.

합성방법

(1R,2S)-(-)-2-[(*tert*-Butyl-diphenyl-silyloxy)methyl]-2-vinylcyclopropylmethanol (10) – 화합물 **9**(2.956 g, 8.06 mmol)와 DMAP(243 mg, 0.99 mmol)이 CH₂Cl₂(35 ml)에 녹아 있는 용액속으로 피리딘(3.3 ml)를 부가하고 0°C에서 Ac₂O(1.14 ml, 12.1 mmol)를 천천히 가한 후 실온에서 1시간 교반하였다. 휘발성 물질들을 감압 증발시킨 후 잔사를 EtOAc와 물에서 추출한 다음 유기층을 건조시키고 여과하여 여액을 감압 농축하였다. 얻어진 잔류물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(hexane/ethyl acetate=10 : 1)로 분리 정제하여 화합물 **10**(3.054 g, 93%)을 얻

었다.

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 7.68~7.39(m, 10 H), 5.96(dd, 1 H, *J*=10.0, 17.0 Hz), 5.19(dd, 1 H, *J*=1.5, 10.5 Hz), 5.13(dd, 1 H, *J*=1.5, 17.5 Hz), 4.17(dd, 1 H, *J*=7.0, 12.0 Hz), 3.85(dd, 1 H, *J*=9.0, 11.0 Hz), 3.72(d, 1 H, *J*=10.0 Hz), 3.55(d, 1 H, *J*=10.0 Hz), 2.06(s, 3 H), 1.34(m, 1 H), 1.07(s, 9 H), 0.83(dd, 1 H, *J*=5.5, 8.0 Hz), 0.70(t, 1 H, *J*=5.0 Hz); *m/z* (FAB) 409(M+H)⁺; HRMS(FAB+) *m/z* C₂₅H₃₃O₃Si(M+H)⁺ calcd 409.2199, obsd 409.2198.

(1R,2S)-2-(*tert*-Butyl-diphenyl-silyloxy)methyl)-2-(2-hydroxyethyl)cyclopropylmethyl acetate (11) – 화합물 **10** (3.19 g, 7.81 mmol)이 녹아 있는 THF(30 ml) 용액으로 borane (BH₃·THF, 11.70 ml, 11.70 mmol, 1.0 M solution in THF)을 0°C에서 천천히 가한 다음, 실온에서 4시간 동안 교반하였다. Sodium peroxoborate tetrahydrate(3 g, 19.50 mmol)을 반응용액으로 가한 후 물(18 ml)을 실온에서 천천히 가하고 밤새 교반하였다. CH₂Cl₂로 추출한 후 감압 농축시켜 얻어진 잔사를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(hexane/ethyl acetate=2 : 1)로 분리 정제하여 화합물 **11**(2.36 g, 71%)을 얻었다.

[α]_D²⁵ -14.57(c 1.55, CHCl₃); ¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 7.70~7.39(m, 10 H), 4.28(dd, 1 H, *J*=6.5, 12.0 Hz), 3.87(dd, 1 H, *J*=6.0, 12.0 Hz), 3.84~3.75(m, 2 H), 3.51(d, 1 H, *J*=10.5 Hz), 3.42(d, 1 H, *J*=10.5 Hz), 2.07(s, 3 H), 1.85(td, 1 H, *J*=6.0, 15.0 Hz), 1.77(td, 1 H, *J*=6.0, 15.0 Hz), 1.10(s, 9 H), 0.98(m, 1 H), 0.58(dd, 1 H, *J*=5.0, 8.5 Hz), 0.31(t, 1 H, *J*=5.0 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 171.27, 135.92, 135.85, 133.18, 133.09, 130.14, 127.99, 71.40, 64.85, 61.29, 34.35, 27.06, 25.17, 21.22, 20.90, 14.96; LRMS(FAB+) *m/z* 427(M+H)⁺.

(2-(2-Acetoxyethyl)-2-((*tert*-butyldiphenylsilyloxy)methyl)cyclopropyl)methyl acetate (12) – **10**의 합성 방법과 유사하게 반응하여 화합물 **12**(93%)를 얻었다.

¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 7.68~7.38(m, 10 H), 4.29(dd, 1 H, *J*=6.5, 12.0 Hz), 4.22(t, 2 H, *J*=7.5 Hz), 3.90(dd, 1 H, *J*=9.5, 11.5 Hz), 3.59(d, 1 H, *J*=10.5 Hz), 3.31(d, 1 H, *J*=

10.5 Hz), 2.08(s, 3 H), 2.03(s, 3 H), 2.00~1.94(m, 1 H), 1.82~1.76(m, 1 H), 1.08(s, 9 H), 0.94-0.91(m, 1 H), 0.62(dd, 1 H, $J=5.0, 8.5$ Hz), 0.31(t, 1 H, $J=4.5$ Hz); ^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3) δ 171.33, 171.18, 135.85, 135.81, 133.75, 133.68, 129.94, 127.91, 69.29, 65.02, 63.13, 28.81, 27.06, 24.56, 21.22, 20.25, 19.50, 14.24; LRMS(FAB+) m/z 469(M+H)⁺.

(2-(2-Acetoxyethyl)-2-(hydroxymethyl)cyclopropyl)methyl acetate (13) – 12(2.40 g, 5.13 mmol)가 녹아 있는 THF (30 ml) 용액 속으로 아세트 산(0.35 ml, 6.16 mmol)을 부가한 다음 TBAF(10.2 ml, 10.2 mmol, 1 M solution in THF)를 부가하였다. 반응혼액을 실온에서 밤새 교반한 후 감압 농축하여 얻어진 잔사물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(hexane/ethyl acetate=1:1.5)로 분리 정제하여 화합물 **13**(1.13 g, 96%)을 얻었다.

$[\alpha]_D^{25} +6.62(c\ 0.45, \text{CHCl}_3)$; ^1H NMR(500 MHz, CDCl_3) δ 4.30~4.21(m, 3 H, AcOCH_2), 3.93(dd, 1 H, $J=8.5, 12.0$ Hz), 3.48(d, 1 H, $J=11.0$ Hz), 3.38(d, 1 H, $J=11.0$ Hz), 2.08(s, 3 H), 2.07(s, 3 H), 1.92~1.86(m, 1 H), 1.82~1.77(m, 1 H), 1.18~1.12(m, 1 H), 0.75(dd, 1 H, $J=5.0, 9.0$ Hz), 0.39(t, 1 H, $J=5.5$ Hz); ^{13}C NMR(125 MHz, CDCl_3) δ 171.15, 171.04, 69.01, 64.61, 62.75, 28.40, 24.77, 21.00, 20.10, 14.44.

(2-(2-Acetoxyethyl)-2-((3-benzoyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)-yl)methyl)cyclopropyl)methyl acetate (14) – 13(83.7 mg, 0.36 mmol), triphenyl phosphine (143.0 mg, 0.54 mmol) 및 N^3 -benzoyluracil(117.9 mg, 0.54 mmol)이 녹아 있는 무수 THF(4 ml) 용액 속으로 diethyl azodicarboxylate(DEAD, 0.09 ml, 0.54 mmol)를 0°C에서 점적하였다. 반응혼액을 실온에서 12시간 교반한 후 감압 농축하여 얻어진 잔사물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(hexane/ethyl acetate=1:1.5)로 분리 정제하여 화합물 **14**(101.9 mg, 66%)를 얻었다.

UV(CH_2Cl_2) λ_{max} 255 nm; $[\alpha]_D^{25} +26.88(c\ 0.71, \text{CHCl}_3)$; ^1H NMR(400 MHz, CDCl_3) δ 7.90(d, 1 H, $J=8.0$ Hz), 7.64~7.45(m, 5 H), 5.79(d, 1 H, $J=8.4$ Hz), 4.36(dd, 1 H, $J=6.4, 12.0$ Hz), 4.26~4.14(m, 2 H), 4.03(d, 1 H, $J=14.4$ Hz), 3.79(dd, 1 H, $J=9.6, 12.0$ Hz), 3.34(d, 1 H, $J=14.8$ Hz), 2.02(s, 3 H), 1.99(s, 3 H), 1.78(m, 1 H), 1.58(m, 1 H), 1.37(m, 1 H), 0.87(dd, 1 H, $J=5.2, 9.2$ Hz), 0.68(t, 1 H, $J=6.0$ Hz); ^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3) δ 171.13, 171.04, 168.87, 162.37, 150.48, 143.97, 135.35, 131.61, 130.64, 129.40, 102.25, 64.21, 62.28, 53.84, 27.97, 22.34, 22.16, 21.15, 21.10, 14.69.

(2-(2-Acetoxyethyl)-2-((3-benzoyl-5-methyl-2,4-dioxo-3,4-dihydropyrimidin-1(2H)yl)methyl)cyclopropyl)methyl acetate (15) – 14의 합성 방법과 유사하게 반응하여 화합물 **15**(90%)를 얻었다.

UV(CH_2Cl_2) λ_{max} 255 nm; $[\alpha]_D^{25} +24.93(c\ 0.63, \text{CHCl}_3)$; ^1H

NMR(500 MHz, CDCl_3) δ 7.94~7.48(m, 5 H), 7.37(d, 1 H, $J=1.0$ Hz), 4.41(dd, 1 H, $J=6.5, 11.5$ Hz), 4.30~4.19(m, 2 H), 4.08(d, 1 H, $J=14.5$ Hz), 3.82(dd, 1 H, $J=10.0, 12.0$ Hz), 3.31(d, 1 H, $J=14.5$ Hz), 2.06(s, 3 H), 2.03(s, 3 H), 1.99(s, 3 H), 1.85~1.79(m, 1 H), 1.64~1.58(m, 1 H), 1.45~1.39(m, 1 H), 0.90(dd, 1 H, $J=5.0, 9.5$ Hz), 0.50(t, 1 H, $J=5.5$ Hz); ^{13}C NMR(100 MHz, CDCl_3) δ 171.09, 169.14, 163.13, 150.51, 139.93, 135.22, 131.78, 130.62, 129.35, 110.89, 64.38, 62.28, 53.52, 28.01, 22.34, 22.19, 21.16, 21.13, 14.56, 12.69.

1-(((1R,2S)-1-(2-Hydroxyethyl)-2-(hydroxymethyl)cyclopropyl)methyl)pyrimidine-2,4(1H,3H)-dione(2) – 14(64.1 mg, 0.15 mmol)가 녹아 있는 MeOH(1 ml) 용액 속으로 1 N sodium methoxide(0.44 ml, 0.45 mmol)를 0°C에서 가한 다음 반응 혼액을 실온에서 밤새 교반하였다. 감압 농축한 다음 얻어진 잔사물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=12:1$)로 분리 정제하여 화합물 **2**(32.1 mg, 89%)를 얻었다.

Mp 129.2~131.1°C; UV(MeOH) λ_{max} 266 nm; $[\alpha]_D^{25} +6.10(c\ 0.49, \text{MeOH})$; ^1H NMR(500 MHz, CD_3OD) δ 7.74(d, 1 H, $J=8.0$ Hz), 5.67(d, 1 H, $J=7.5$ Hz), 3.82~3.67(m, 5 H), 3.42(dd, 1 H, $J=9.0, 12.0$ Hz), 1.61(t, 2 H, $J=6.5$ Hz), 1.26~1.20(m, 1 H), 0.83(dd, 1 H, $J=5.0, 9.5$ Hz), 0.82(t, 1 H, $J=5.0$ Hz); ^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD) δ 165.42, 152.10, 145.91, 101.00, 61.35, 59.57, 53.06, 31.25, 24.76, 21.95, 13.44; LRMS(FAB+) m/z 241(M+H)⁺; HRMS(FAB+) m/z $\text{C}_{11}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}_4$ (M+Na)⁺ calcd 241.1188, obsd 241.1188.

1-(((1R,2S)-1-(2-Hydroxyethyl)-2-(hydroxymethyl)cyclopropyl)methyl)-5-methylpyrimidine-2,4(1H,3H)-dione(3) – 암모니아가 포화되어 있는 메탄올(6 ml)을 0°C에서 화합물 **15**(135.3 mg, 0.32 mmol)로 부가한 다음 실온에서 밤새 교반하였다. 감압 농축하여 얻어진 잔사물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피($\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{MeOH}=8:1$)로 분리 정제하여 화합물 **3**(69.7 mg, 92%)을 얻었다.

UV(MeOH) λ_{max} 272 nm; $[\alpha]_D^{25} +2.17(c\ 0.62, \text{MeOH})$; ^1H NMR(500 MHz, CD_3OD) δ 7.59(d, 1 H, $J=1.0$ Hz), 3.82~3.63(m, 5 H), 3.41(dd, 1 H, $J=9.5, 11.5$ Hz), 1.87(d, 3 H, $J=1.0$ Hz), 1.66~1.57(m, 2 H), 1.25~1.19(m, 1 H), 0.83(dd, 1 H, $J=5.5, 9.5$ Hz), 0.34(t, 1 H, $J=5.5$ Hz); ^{13}C NMR(100 MHz, CD_3OD) δ 165.57, 152.23, 141.62, 109.86, 61.37, 59.60, 52.78, 31.30, 24.83, 21.82, 13.27, 11.14; LRMS(FAB+) m/z 255(M+H)⁺; HRMS(FAB+) m/z $\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_2\text{O}_4$ (M+H)⁺ calcd 255.1345, obsd 255.1338.

4-Amino-1-(((1R,2S)-1-(2-hydroxyethyl)-2-(hydroxymethyl)cyclopropyl)methyl)pyrimidin-2(1H)-one(4) – 무수 피리딘(2 ml)에 녹아있는 화합물 **2**(41.8 mg, 0.17 mmol) 용액 속

으로 아세트산 무수물(0.12 ml, 1.36 mmol)이 실온에서 부가되고 밤새 교반 후 감압농축하여 얻은 잔사를 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에틸 아세테이트=1:3)를 통하여 수산기가 아세틸화된 화합물(55.8 mg, 99%)을 얻은 다음, 무수 피리딘에 녹아 있는 1,2,4-트리아졸(178.4 mg, 2.58 mmol)을 가하고 0°C로 냉각 후 POCl₃(0.16 ml, 1.72 mmol)를 부가하였다. 실온에서 밤새 교반 후 물을 가하고 감압농축하고 그 잔사물에 1,4-dioxane(3 ml)과 암모니아수(28%, 1.5 ml)를 0°C에서 각각 가하고 실온에서 밤새 교반하였다. 감압농축하고 여기에 암모니아로 포화된 메탄올 용액(1.5 ml)을 가하고 실온에서 밤새 교반한 후 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 : 메탄올=7:1)를 통하여 화합물 4(31.6 mg, 76%)를 얻었다.

Mp 68.1~70.0°C; UV(MeOH) λ_{max} 276 nm; [α]_D²⁵ +1.00(c 2.60, MeOH); ¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 7.73(d, 1 H, J=7.0 Hz), 5.87(d, 1 H, J=7.5 Hz), 3.82~3.75(m, 4 H), 3.71~3.67(m, 1 H), 3.42(dd, 1 H, J=9.0, 12.0 Hz), 1.61(t, 2 H, J=7.0 Hz), 1.24~1.18(m, 1 H), 0.83(dd, 1 H, J=5.5, 9.0 Hz), 0.32(t, 1 H, J=5.5 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 166.38, 158.26, 146.00, 94.49, 61.43, 59.64, 53.87, 31.45, 24.65, 22.15, 13.29; LRMS(FAB+) *m/z* 262(M+Na)⁺; HRMS(FAB+) *m/z* C₁₁H₁₇N₃O₃Na(M+Na)⁺ calcd 262.1168, obsd 262.1168.

(2-(2-Acetoxyethyl)-2-((2-amino-6-chloro-9H-purin-9-yl)methyl)cyclopropyl)methyl acetate (16) - 14의 합성 방법과 유사하게 반응하여 화합물 16(87%)를 얻었다.

UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 248 nm; [α]_D²⁵ +5.23(c 0.70, CHCl₃); ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 7.89(s, 1 H), 5.34(s, 2 H), 4.37~4.22(m, 4 H), 3.75(dd, 1 H, J=10.0, 12.0 Hz), 3.60(d, 1 H, J=14.8 Hz), 2.00(s, 3 H), 1.94(s, 3 H), 1.64~1.56(m, 1 H), 1.55~1.50(m, 1 H), 1.49~1.41(m, 1 H), 0.95(dd, 1 H, J=5.6, 8.8 Hz), 0.49(t, 1 H, J=5.6 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 171.13, 171.08, 159.47, 154.35, 151.47, 142.28, 133.21, 64.16, 62.29, 50.41, 27.79, 23.03, 22.64, 21.20, 21.04, 15.28.

2-Amino-9-(((1R,2S)-1-(2-hydroxyethyl)-2-(hydroxymethyl)cyclopropyl)methyl)-1H-purin-6(9H)-one (5) - 16의 메탄올 용액으로 2-mercaptoethanol(0.13 ml, 1.80 mmol)과 1 N sodium methoxide(1.79 ml, 1.80 mmol)을 부가하고 6시간 환류 교반하고 식힌 다음, 아세트산으로 중화하고 감압농축하여 얻어진 잔사를 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 : 메탄올=5:1)를 통하여 구아닌 뉴클레오사이드 5(36.3 mg, 44%)를 얻었다.

Mp 240.1~242.0°C; UV(MeOH) λ_{max} 254 nm; [α]_D²⁵ -3.05(c 0.25, MeOH); ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ 7.90(s, 1 H), 4.01(d, 1 H, J=14.5 Hz), 3.94(d, 1 H, J=15.0 Hz), 3.85~3.80(m, 1 H), 3.76(dd, 1 H, J=5.5, 12.0 Hz), 3.73~3.68(m, 1 H), 3.42(dd, 1 H, J=8.8, 11.8 Hz), 1.55(t, 2 H, J=6.8 Hz),

1.37~1.31(m, 1 H), 0.96(dd, 1 H, J=5.0, 9.0 Hz), 0.36(t, 1 H, J=5.5 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 157.46, 154.11, 152.06, 137.90, 116.84, 61.21, 59.48, 49.91, 32.19, 25.75, 22.73, 14.69; LRMS(FAB+) *m/z* 280(M+H)⁺; HRMS(FAB+) *m/z* C₁₂H₁₈N₅O₃(M+H)⁺ calcd 280.1410, obsd 280.1412.

(2-(2-Acetoxyethyl)-2-((6-chloro-9H-purin-9-yl)methyl)cyclopropyl)methyl acetate (17) - 14의 합성 방법과 유사하게 반응하여 화합물 17(75%)을 얻었다.

UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 266 nm; ¹H NMR(400 MHz, CDCl₃) δ 8.71(s, 1 H), 8.35(s, 1 H), 4.52(d, 1 H, J=14.4 Hz), 4.39(dd, 1 H, J=6.0, 12.0 Hz), 4.34~4.28(m, 1 H), 4.24~4.18(m, 1 H), 3.85(d, 1 H, J=14.8 Hz), 3.74(dd, 1 H, J=10.0, 12.0 Hz), 2.01(s, 3 H), 1.94(s, 3 H), 1.63~1.55(m, 2 H), 1.51~1.44(m, 1 H), 1.07(dd, 1 H, J=6.0, 9.2 Hz), 0.56(t, 1 H, J=5.8 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 171.02, 170.93, 152.37, 152.26, 151.30, 145.18, 131.49, 64.07, 62.20, 50.95, 27.72, 23.14, 22.63, 21.14, 20.98, 15.42; LRMS(FAB+) *m/z* 367(M+H)⁺; HRMS(FAB+) *m/z* C₁₆H₂₀ClN₄O₄(M+H)⁺ calcd 367.1173, obsd 367.1165.

2-(((1S,2R)-1-((6-Amino-9H-purin-9-yl)methyl)-2-(hydroxymethyl)cyclopropyl)ethanol (6) - 암모니아로 포화된 메탄올(10 ml)을 화합물 17(80.8 mg, 0.22 mmol)에 부가하고 80°C로 7시간 가열한 후 식히고 감압농축하여 컬럼 크로마토그래피(디클로로메탄 : 메탄올=7:1)를 통하여 아데닌 뉴클레오사이드 6(41.4 mg, 71%)을 얻었다.

Mp 185.2~186.0°C; UV(MeOH) λ_{max} 262 nm; [α]_D²⁵ +6.03(c 0.38, MeOH); ¹H NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 8.22(s, 1 H), 8.11(s, 1 H), 4.10(d, 1 H, J=14.5 Hz), 4.06(d, 1 H, J=14.5 Hz), 3.74~3.67(m, 2 H), 3.64~3.58(m, 1 H), 3.32(dd, 1 H, J=9.0, 12.0 Hz), 1.51~1.41(m, 2 H), 1.33~1.27(m, 1 H), 0.89(dd, 1 H, J=5.5, 9.0 Hz), 0.30(t, 1 H, J=5.5 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, CDCl₃) δ 156.01, 152.52, 149.83, 141.59, 118.43, 61.35, 59.50, 50.24, 31.16, 25.35, 22.63, 14.03.

2-Amino-9-(((1R,2S)-1-(2-hydroxyethyl)-2-(hydroxymethyl)cyclopropyl)methyl)-1H-purin-6(9H)-one (7) - 출발 물질로 17을 사용하여 5의 합성법과 유사하게 반응시켜 화합물 7(48%)을 얻었다.

Mp 203.2~205.0°C; UV(MeOH) λ_{max} 250 nm; [α]_D²⁵ +2.19(c 0.30, MeOH); ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ 8.28(s, 1 H), 8.09(s, 1 H), 4.20(d, 1 H, J=14.5 Hz), 4.17(d, 1 H, J=14.0 Hz), 3.87~3.79(m, 2 H), 3.75~3.71(m, 1 H), 3.43(dd, 1 H, J=9.5, 11.5 Hz), 1.60~1.52(m, 2 H), 1.46~1.41(m, 1 H), 1.02(dd, 1 H, J=5.0, 9.0 Hz), 0.82(t, 1 H, J=5.0 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, CD₃OD) δ 157.93, 149.42, 145.34, 141.11, 123.48,

61.29, 59.38, 50.54, 31.05, 25.47, 22.78, 14.07.

2-((1S,2R)-2-(Hydroxymethyl)-1-((6-(methylamino)-9H-purin-9-yl)methyl)cyclopropyl)ethanol (8) – 암모니아로 포화된 메탄올 대신에 40% 메칠아민을 사용하여 **6**의 합성방법과 유사하게 반응하여 화합물 **8**(48%)을 얻었다.

Mp 155.0~156.0°C; UV(CH₂Cl₂) λ_{max} 268 nm; [α]_D²⁵ +4.10 (c 0.84, MeOH); ¹H NMR(500 MHz, CD₃OD) δ 8.15(s, 2 H), 4.09(d, 1 H, J=14.0 Hz), 4.04(d, 1 H, J=15.0 Hz), 3.72~3.67(m, 2 H), 3.62~3.57(m, 1 H), 3.32(dd, 1 H, J=9.0, 12.0 Hz), 3.01(br s, 3 H), 1.49~1.40(m, 2 H), 1.32~1.26(m, 1 H), 0.87(dd, 1 H, J=5.0, 9.0 Hz), 0.29(t, 1 H, J=6.0 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, CD₃OD) δ 155.50, 152.54, 148.84, 140.90, 118.99, 61.35, 59.49, 50.14, 31.16, 26.69, 25.41, 22.67, 13.95.

항HSV 약효 검색법

CPE(virus-induced cytopathic effect) 저해법을 이용하였다. 즉, 96-well plate에 Vero 세포를 증식시킨 후 DME/2% FBS 배양액으로 희석된 바이러스를 각 well에 접종량이 100 CCID₅₀(50% cell culture inhibitory dose)가 되도록 100 μl씩 접종하고 1시간 동안 37°C에서 흡착시킨 후 배양액을 제거하였다. 각 농도로 희석된 약물을 duplicate로 각 well에 100 μl씩 첨가하고 37°C CO₂ 배양기에서 3일 배양한 다음 MTT법으로 검색하였다. 약효평가 결과의 약물의 독성에 의한 영향을 알 수 있도록 바이러스 접종 시 바이러스가 첨가되지 않은 배양액을 세포에 가한 다음 바이러스로 접종된 세포와 같은 방법으로 처리하였다.

항Coxsackie B 바이러스 약효 검색법

HSV에서처럼 CPE 저해법으로 평가하였다. 성장이 멈춘 HeLa 세포에 희석된 바이러스를 96-well plate의 well당 100 CCID₅₀가 되도록 100 μl씩 접종시키고 30분 동안 37°C CO₂ 배양기에서 흡착시켰다. 바이러스 액을 제거하고 HSV에서와 같이 약물

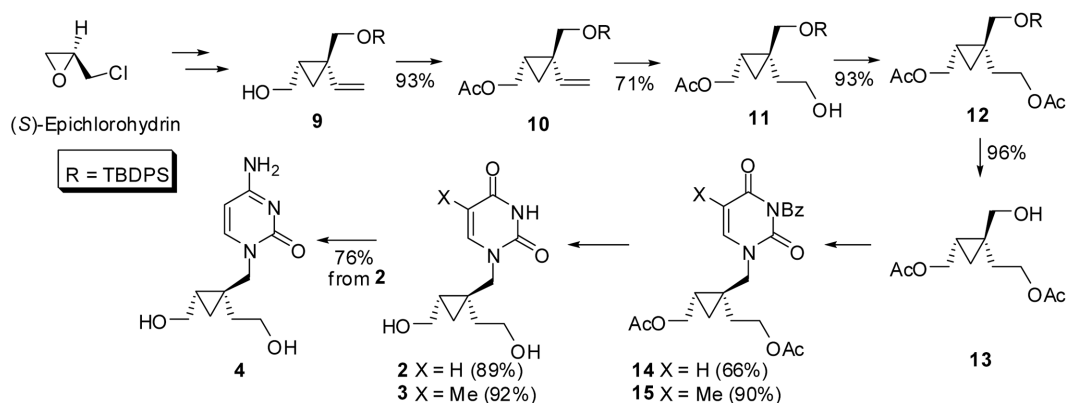
을 100 μl씩 duplicate로 첨가한 후 2일 동안 배양하였다. 배양액을 제거한 후 HSV와 같은 방법으로 MTT 용액을 첨가하여 약효를 평가했다.

항HIV 약효 검색법

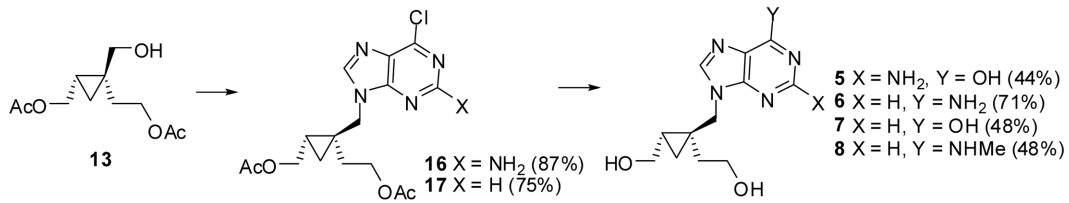
CPE 저해법을 이용하였다. 즉, MT-4 세포를 원심분리 한 다음 상등액은 제거하고 세포침전물에 바이러스를 100 CCID₅₀가 되도록 접종한 다음 RPMI 1640/10%를 첨가하여 세포를 1×10⁵ cell/ml가 되도록 희석하였다. 두 배 희석된 약물이 담겨 있는 plate에 well당 100 μl의 세포희석액을 첨가하고, 37°C CO₂ 배양기에서 5일 배양하였다. MTT 검색법으로 시료의 독성 및 약효를 평가하였다.

실험결과 및 고찰

본 연구실에서 개발한 방법(에폭사이드 환 개열 반응, 락톤 환형성 반응 등)에 따라(S)-epichlorohydrin으로부터 6단계의 반응을 통해 화합물 **9**를 합성⁸⁾한 후, hydroboration, Mitsunobu 반응 및 nucleobase 변형 방법을 통해 메틸렌이 하나 더 추가된 화합물 **1**의 유도체로서 피리미딘 뉴클레오사이드 **2~4**(Scheme 1)와 퓨린 뉴클레오사이드 **5~8**(Scheme 2)을 12~15 합성단계들 통해 합성하였다. 합성된 화합물은 HSV-1, -2, HIV-1, -2, poliovirus 및 coxsackie B1, B3 바이러스에 대해 생물활성을 검색하였다. 기대하였던 HSV-1, -2에 대한 저해활성(IC₅₀>100 μM)은 나타나지 않았다. 천연형인 β-뉴클레오사이드와는 달리 합성된 화합물들은 α-뉴클레오사이드인데 α-뉴클레오사이드는 구조변형에 따른 활성 변화가 매우 극적으로 일어나는 것으로 생각된다. RNA 바이러스인 poliovirus 및 coxsackie B1, B3 바이러스에서도 의미 있는 저해활성은 나타나지 않았다. 또 다른 RNA 바이러스인 HIV-1, -2에서는 세포독성에 기인한 HIV 바이러스 저해활성을 보여 주었다(사이토신 화합물 **4**: IC₅₀=36.51, CC₅₀=



Scheme 1 – Synthesis of cyclopropyl pyrimidine nucleosides.



Scheme 2 – Synthesis of cyclopropyl purine nucleosides.

36.51 μM; hypoxanthine 화합물 7: IC₅₀=98.43, CC₅₀=98.43 μM; N-메칠아데닌 화합물 8: IC₅₀=93.32, CC₅₀=93.32 μM). 합성된 화합물들은 ¹H/¹³C NMR, 녹는점, 선광도, UV, LRMS 및 HRMS로 구조 분석하고 물성을 검색하였다. 비록 합성한 화합물들이 표적하는 바이러스에 대해 의미있는 저해활성을 나타내지는 않았지만 아직까지 연구가 거의 되어있지 않은 α-뉴클레오사이드에 대한 합성과 특히 광학활성 사이클로프로필 뉴클레오사이드의 새로운 합성법을 확립하였다.

결 론

α-Configuration을 가지는 새로운 사이클로프로필 피리미딘 및 퓨린 뉴클레오사이드 유도체가 에폭사이드 환 개열 반응, 락톤 환 형성 반응 등으로 제조한 화합물 9를 출발물질로하여 위치선택적 hydroboration, Mitsunobu 반응 및 nucleobase 변형 방법을 주요 반응으로 하여 합성되었다. 합성된 화합물에 대하여 HSV-1, -2, HIV-1, -2, poliovirus 및 coxsackie B1, B3 바이러스에 대해 생물활성을 검색하였으나 단지 HIV-1, -2에 대하여 사이토신 뉴클레오사이드를 비롯한 3개의 화합물이 세포독성에 기인한 항 HIV-1, -2 활성을 보여 주었다. 본 연구는 광학활성 사이클로프로필 뉴클레오사이드의 효율적인 합성에 활용될 수 있을 것이다.

감사의 말씀

이 논문은 부산대학교 자유과제 학술연구비(2년)에 의하여 연구되었습니다.

참고문헌

1) Elion, G. B., Furman, P. A., Fyfe, J. A., de Miranda, P.,

Beauchamp, L. and Schaeffer, H. J. : Selectivity of action on an antiherpetic agent, 9-(2-hydroxyethoxymethyl)guanine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **74**, 5716 (1977).

2) De Clercq, E. : Antiviral drugs in current clinical use. *J. Clin. Virol.* **30**, 115 (2004).

3) Larder, B. A., Cheng, Y.-C. and Darby, G. : Characterization of abnormal thymidine kinases induced by drug-resistant strains of herpes simplex virus type 1. *J. Gen. Virol.* **64**, 523 (1983).

4) Nugier, F., Colin, J. N., Aymard, M. and Langlois, M. : Occurrence and characterization of acyclovir-resistant herpes simplex virus isolates: report on a two-year sensitivity screening survey. *J. Med. Virol.* **36**, 1 (1992).

5) Hill, E. L., Hunter, G. A. and Ellis, M. N. : *In vitro* and *in vivo* characterization of herpes simplex virus clinical isolates recovered from patients infected with human immunodeficiency virus. *Antimicrob. Agents Chemother.* **35**, 2322 (1991).

6) Norbeck, D. W., Kern, E., Hayashi, S., Rosenbrook, W., Sham, H., Herrin, T., Plattner, J. J., Erickson, J., Clement, J., Swanson, R., Shipkowitz, N., Hardy, D., Marsh, K., Arnett, G., Shannon, W., Broder, S. and Mitsuya, H. : Cyclobut-A and cyclobut-G: Broad-spectrum antiviral agents with potential utility for the therapy of AIDS. *J. Med. Chem.* **33**, 1281 (1990).

7) Sekiyama, T., Hatsuya, S., Tanaka, Y., Uchiyama, M., Ono, N., Iwayama, S., Oikawa, M., Suzuki, K., Okunishi, M. and Tsuji, T. : Synthesis and antiviral activity of novel acyclic nucleosides: Discovery of a cyclopropyl nucleoside with potent inhibitory activity against herpesviruses. *J. Med. Chem.* **41**, 1284 (1998).

8) Park, A.-Y., Moon, H. R., Kim, K. R., Chun, M. W. and Jeong, L. S. : Synthesis of novel L-N-MCd4T as a potent anti-HIV agent. *Org. Biomol. Chem.* **4**, 4065 (2006).