

2차년도
최종보고서

분자수준화학의 응용기술 개발사업

Study on Molecular Level Chemistry

Terpene화합물의 생리활성 탐색연구

Study on the Search of Bioactive
Terpene Compounds

한국화학연구소

과 학 기 술 부

제 출 문

과학기술부 장관귀하

본 보고서를 “분자수준 화학의 응용기술 개발사업” 과제 (세부과제명: Terpene화합물의 생리활성 탐색 연구)의 최종보고서로 제출합니다.

1998. 12

연구기관 : 한국화학연구소

총괄연구 책임자 : 최길영

세부과제 책임자 : 이철해

여 백

총 목 차

1. Terpene 화합물의 생리활성 탐색연구 7
2. Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor에
관한 연구 73
3. Cholesterol 생합성에 관여하는 효소의 조절물질
탐색 연구 135
4. β_3 -Adrenoceptor Agonist 개발연구 189

여 백

요 약 문

I. 제목

Terpene화합물의 생리활성 탐색연구

II. 연구개발의 목적 및 중요성

목적: 스쿠알아민 모핵의 합성법 개발과 함께 스테로이드계 항생제 후보물질 설계 및 합성과 약효 및 약리 연구를 위한 준비 작업 수행.

중요성: 미생물의 끊임없는 변이를 통한 내성균의 출현과 새로운 감염증의 발견에 따라 광범위한 항균력을 가진 새로운 항생제의 개발, 특히 바쁜 현대인의 생활과 자가치료 증대의 사회적 요청에 부응한 지속적 약효를 지닌 주사용 및 경구용 항생제의 개발이 요구됨.

III. 연구개발의 내용 및 범위

- 1) 대조물질의 신규 합성법 개발
- 2) 후보물질의 설계 및 합성

IV. 연구개발 결과

스쿠알아민의 전합성 및 대량생산에 필요한 기술개발과 후보물질의 합성이 이루어짐. 2건의 국내 특허 출원중.

V. 활용계획

스쿠알아민의 여러 가지 유도체에 대한 합성법 연구와 이러한 유도체들의 활성에 대한 기초연구를 토대로 새로운 항생제의 개발에 응용할 것이다.

여 백

Terpene화합물의 생리활성 탐색 연구

Study on the Search of Bioactive Terpene Compounds

담당연구책임자 : 이 철해

연구원 : 송지섭, 김봉진, 김문환
정희정, 김재학, 최보승
곽현정, 편도규, 김은정

여 백

Summary

I. Title

The Study on the Search of Bioactive Terpene Compounds

II. The Purpose and Importance of the Research

Purpose: Through development of synthesis of the mother skeleton of squalamine, analogues of steroidal antibiotics will be synthesized and prepared by computational design. Moreover, the structure-activity relationship of the analogs will also be established.

Importance: The development of new antibiotics with broad spectrum of activities is needed because of generation of bacterial resistance to the antibiotics and discovery of new infective disease. Especially, injectable and oral antibiotics with prolonged half-life were required in modern society.

III. The Contents and Scope of the Research

- 1) Development of new synthetic method of squalamine
- 2) Design and synthesis of new drug candidates

IV. The Result of the Research

The total synthesis and development of new production method of squalamine were accomplished and new drug candidates were synthesized. Two domestic patents were

submitted in press.

V. The Usage of the Research Result

It will be applied to develop new antibiotics based on the study for synthetic methods of squalamine analogues and their structure-activity relationships.

Contents

Chapter 1. Introduction	15
Chapter 2. The Study on Development of Domestic and Foreign Technology	20
Chapter 3. The Process of Research and Result	26
Chapter 4. An Achievement of the Research Object and an Effect on Industry	67
Chapter 5. The Usage of the Research Result	69
Chapter 6. References	70

여 백

목 차

제 1장 서론	15
제 2장 국내외 기술개발 현황	20
제 3장 연구개발 수행내용 및 결과	26
제4장 연구개발 목표 달성도 및 대외 기여도	67
제 5장 연구개발 결과의 활용계획	69
제 6장 참고문헌	70

여 백

제 1장 서론

스쿠알아민(1)은 동물세포에서 처음으로 추출된 수용성 양이온 스테로이드로서 광범위 항균 스펙트럼을 갖는 항생제이다. 1993년 상어의 위 조직에서 추출된 스쿠알아민은 그람음성균, 그람양성균, 진균에 대해 광범위 항생작용을 갖고 있다. 스쿠알아민의 생물학적 작용에 대한 분자수준에서의 메카니즘은 현재 잘 알려져 있지 않지만 항생제 이외에도 NHE 억제제로서도 중요한 역할을 한다고 알려져 있다. 신체에 존재하는 각 세포는 산과 염기의 균형 즉 수소이온 농도를 유지해야 생존 할 수 있다. 수소 이온 농도의 균형이 조금이라도 깨어지게 되면 세포내의 화학반응속도가 변하게 되고 이에 따라 우리 몸에 치명적인 손상이 가해진다. 현재 스쿠알아민은 항생제로서 뿐만 아니라 심근경색, 협심증, 빈혈, 당뇨, 암, 전립선 비대증 등의 치료 및 예방에 관한 연구가 이루어 지고 있고, 동맥경화, 뇌종양, 항바이러스제로서의 효능도 보고 되었다. 최근에 스쿠알아민은 암 치료에 대한 화학요법 연구가 진행되고 있다고 보고 되었다.

현재 스쿠알아민은 아미노 스테로이드 화합물로서 천연물에서 추출되는 양이 적어 생리활성을 검증하는데 보다 많은 양이 요구되었다. 스쿠알아민의 합성이 복잡하고 어려움에도 불구하고 많은 연구그룹에서 합성이 시도 되었거나 시도되고 있다. 또한 스쿠알아민의 여러 범위에서 효능이 입증되고 있어서 그 유도체들 중에서 보다 탁월한 효능을 갖는 신규 의약이 개발될 것이 기대된다.

현재 전세계는 감염성 질환으로 인해 지구촌 위기에 직면하고 있으며

감염성 질환은 조기사망을 유도하는 가장 무서운 요인으로 간주되고 있어 1995년 한해동안 1천 7백만명 이상이 세균감염으로 사망하였음이 보도되었다. 수년전에는 감염성 질환은 통제가능한 분야로 간주되어 비교적 낙관적으로 평가되었던 것과는 대조적으로 지구의 온난화, 여행인구의 증가, 국가간의 활발한 무역거래로 인해 전세계 어느 국가도 감염성 질환으로부터 안전하지 못한 상황임을 지적하고 있다. 미국의 경우 92년도에 감염으로 인해 사망하는 비율이 심장병과 암에 이어 3위를 차지하고 있으며 이는 5위 안에 들지 못했던 80년대에 비해 2-3단계 사망률이 상승하여 58%의 사망률 증가를 기록하고 있다고 미국 임상 의학지(JAMA)가 보도하여 세계 의약계에 긴장을 안겨주고 있다. 화학요법제의 발전과 병행하여 내성균이 출현하여 난치성 감염증을 끊임없이 만들어내어 87-92년 5년간 페니실린 내성비율은 60배 이상으로 증가하는등 신감염증이 만연하게 되어 bacteria, fungi 및 virus로부터 발생하는 신감염증 및 난치성 감염증의 박멸을 위한 체계적인 연구가 시급한 실정이다. 내성균의 끊임없는 출현으로 새로운 항생제의 요구가 절실한 시점에서 스쿠알아민은 현재까지 알려진 유일한 스테로이드계 화합물중 항생효과를 갖고 있다. 그러므로 스쿠알아민 유도체들에 대한 연구는 앞으로 새로운 작용기전을 갖는 항생제 개발에 중요한 분야가 될 것이 기대된다.

스테로이드는 자연에 널리 분포되어 있는 천연물로서 다양한 생리학적 활성을 갖고 있어 인간의 생식기관의 발육 및 억제와 곤충의 허물 벗는 과정, 수생균류의 번식등에 관여하며, 현재 다양한 의약품으로 사용되고 있다. 한편 인류에게 가장 오래된 대사성 장애인 비만은 삶의 질이 높아짐에 따라 잦은 외식, 가공식품의 소비증가, 신체활동

의 감소로 인해 그 발생율이 크게 증가하고 있으며 특히 어린이 비만에 대한 관심이 고조되고 있다. 각종 자료에 의하면 일반적으로 선진국의 경우 남자의 20%와 여자의 30%가 비만으로 밝혀졌고 미국의 경우 어린이들의 25%, 어른의 30%가 비만으로 나타났으며 우리나라 서울시내 초·중·고교 학생들중 19%가 비만인 것으로 조사되었다. 비만 어린이의 경우 용모에 의한 정서 장애를 초래하며 고인슐린혈증, 고지혈증 및 고혈압과 같은 성인병이 많이 나타나므로 이의 조기치료가 시급하며 성인의 경우 당뇨병, 고혈압, 고지혈증, 심장병등의 성인병이 발병하는 빈도가 높아지게 된다. 비만과 관련된 많은 내과적 합병증중 인슐린 비의존성 당뇨병(non-insulin dependent diabetes mellitus, NIDDM)이 밀접한 관련이 있다는 것은 오래전부터 잘 알려진 사실이다. 비만으로 인한 성인형 당뇨병은 심부전증, 심근경색증, 중풍, 말초혈관질환등과 같은 합병증이 생길 위험도가 매우 높아, 생활의 질을 떨어뜨리는 것은 물론 조로하여 조기 사망하게 되는 원인이 되므로 비만증과 당뇨병의 치료제 개발은 인류의 평균수명을 높이는 데 큰 역할을 할것으로 기대된다.

스테로이드계 화합물은 동, 식물에서 생리활성작용에 관여하고 있으며 포유동물에서는 성호르몬 뿐아니라 세포막을 구성하는 기본물질로서 생명체에 없어서는 안 될 중요한 화합물이다. 특히 콜레스테롤에 대한 연구가 진행되면서 현대인에게 성인병의 중요한 원인으로 대두되는 심장순환계 질환은 모두 콜레스테롤의 과다섭취 및 혈관내벽에 침착됨으로서 발생하는 동맥경화와 많은 관계가 있음이 판명되었다. 또한 식물에서도 개화 및 식물성장에 중요한 성분으로 인식되고 있으며, 이러한 많은 천연 스테로이드 화합물들은 식물의 뿌리로부터 추출되고

있다. 이와같이 스테로이드 연구는 앞으로 감염증 치료제 이외에도 여러 분야에서 중요한 의약품으로 개발될 것이 기대된다.

가. 연구개발의 경제·사회·기술적 중요성

(1) 기술적 측면

- 항감염증 치료제 개발 연구경험 축적 : 베타락탐 및 퀴놀론 항생제, 항바이러스제
- 소화 및 대사성 치료제 개발연구체제 확립 : 위궤양 치료제
- 분자설계 합성기술, 물질구조 분석기술, 물질분리 및 정제기술 보유
- 활성검색기술, 약리시험 및 안전성 연구 체제 확보
- 산·학·연 공동 연구가능 분야

(2) 경제·산업적 측면

- 기술집약적이며 고부가가치의 연구분야
- 기초연구 성공시 응용기반 기술 이전으로 경제적 파급효과가 큰 연구분야
- 국내시장 개방으로 인해 위축된 국내 제약 산업의 활성화 도모
- 세계시장 독점 가능 품목

(3) 사회·문화적 측면

- 과학기술 발달로 인한 환경오염과 생태계 파괴로 신감염증 출현
- 약물남용 및 장기복용으로 인한 새로운 내성균 유도
- 삶의 질 향상으로 비만, 당뇨, 고지혈증 등의 현대병 치료개발 연구 필요성의 증대

제 2 장 국내·외 연구개발 현황

최근의 새로운 항생물질 개발경향은 천연물로부터 약리활성이 있는 화합물의 분리연구와 더불어 근래에 와서는 기존의 개발된 항생물질의 장·단점 및 약리작용 메카니즘 등의 분석에 의한 서로 다른 계통의 기존의 항생물질들을 재조합하여 새로운 형태, 즉 "Dual-Action" 계통의 항생물질개발연구로 점차 확대되고 있다. "Dual-Action" 계에 대한 대표적인 외국의 연구 개발 동향을 살펴보면 1987년 일본에서 상품화된 Ampicillin과 Sulbactam이 조합된 Pfizer사의 Sultamicillin과 현재 임상 2단계에 있는 Hoffmann-La Roche사의 Cefotaxime과 Fleroxacin이 조합된 Ro-23-9424가 보고되고 있다.

Sultamicillin은 Ampicillin이 Staphylococcal β -lactamase에 의해 쉽게 분해되고 물에 대한 용해도가 낮은 단점을 β -lactamase 저해제인 Sulbactam과 에스테르 형태로 조합시킴으로서 Ampicillin의 단점을 보완하고 동시에 Ampicillin과 Sulbactam의 경구흡수도를 증가시키는 prodrug형태로 개발된 항생제이다. Sultamicillin은 만성기관지염, 인두염을 유발하는 Streptococcal 감염증 및 임질등의 치료에 매우 효과적인 약으로서 보고되어 있다. 또한 1988년 Hoffmann-La Roche사의 Ro-23-9424는 제 3세대 세파로스포린계 주사용 항생제인 Cefotaxime 과 제 3세대 퀴놀론계 항생제인 Fleroxacin을 조합하여 얻어진 항생물질로서 Cefotaxime의 Streptococci균에 대한 항균활성이 낮은 단점을 보완하고 Fleroxacin의 용해도를 더욱 증가시킨 prodrug형태의 항생물질이다. 현재 임상 2단계에 있는 Ro-23-9424는 약리활성이나 독성 측면에서 기존의 세파로스포린과 퀴놀론계 항생제의 단점을 상호 보완하는 효과가 있음이 입증되어 머지 않아 상품화될 것으로 예측되고

있다.

이외에도 1994년도에 제 33차 ICACC회의에서 보고된 Procter & Gamble사에서 개발된 Cefotaxime과 Quinolone이 조합된 화합물등, “Dual-Action”에 의한 prodrug형태의 새로운 항생제가 계속적으로 발표되고 있다. 1967년 *Pachysandra terninalis Siebet Zucc. (Buxaneae)*로부터 분리되어 구조가 확인된 Pachysternine A가 최초의 스테로이드계 β -lactam항생제임이 알려졌다으며 1994년 일본 Senju 제약회사에서는 Dexamethasone과 Norfloxacin을 에스테르화시켜 단일 화합물로 제조하여 항균작용과 소염효과를 동시에 나타내는 Steroidal quinolone을 개발하여 임상시험중임을 발표하였으며, 1995년에는 독일 뮌헨대학의 Ugi교수 팀에서 Steroidal β -lactam 화합물을 합성하였음이 알려지는 등, 스테로이드계 항생제에 관한 선진국의 연구가 새로운 항생물질을 개발하는 경향을 보이고 있다.

스테로이드중에서 산소가 스테로이드 골격 및 곁가지 (side chain)에 도입된 화합물들은 oxysterol이라 명명되며 이미 포유동물의 인체내 콜레스테롤의 생합성 및 신진대사에 관여한다고 알려진 효소들인 HMG Co A(3-hydroxy-3-methyl glutaryl coenzyme A), ACAT(acyl coenzyme A:cholesterol acyl transferase), CETP(cholesteryl ester transfer protein)등의 효소작용을 저해한다는 사실이 알려져 혈중 콜레스테롤의 농도를 조절하는 기능을 가진 화합물로 개발되고 있다. 그러나 스테로이드 골격에 amino기가 도입된 화합물들은 oxysterol에 비해 그 연구가 활발하지 못하였으나 최근에 주목을 받기 시작하였다. 현재까지 천연에서 분리 확인되어 그 항생효능이 알려진 amino스

테로이드로는 인도의 *chonemorpha fragrans*라는 식물로부터 분리확인된 chonemorphine과 dogfish shark, *Squalus acanthias*라는 상어의 위액으로부터 분리된 Squalamine이 있다.

Chonemorphine은 antiparasitic agents로 그 약효가 알려져 있으며, Squalamine은 non-peptidyl broad spectrum antibiotics로서 gram 양성균, gram 음성 박테리아, 곰팡이 그리고 protozoa에 강한 효능이 있음이 최근 Magainin제약회사의 과학자들에 의해 판명되었다. 특히 Squalamine은 *E. coli*, *Strep. faecalis*, *Candidal albicans*, *Proleus vulgaris*, *Serratia mercescens* 등에 대한 항생효능이 페니실리게 항생제인 Ampicillin보다 뛰어난 것으로 판명되어 주목을 받고 있다.

Squalamine의 스테로이드 고리 A ring에 치환된 amino기가 항생작용에 중요한 역할을 하고 있음이 최근 연구에서 밝혀지고 있으며 생리활성 효과가 스테로이드 고리의 구조와 아민 치환체의 종류와 위치와도 밀접한 관계가 있을 것으로 예측된다.

현재까지 알려진 스쿠알아민의 전합성에 관한 보고는 다음과 같다. 1995년에 3 β -아세톡시-5-콜레닉산과 3 β -히드록시-5-콜레닉산(2)을 출발물질로 17단계의 반응을 걸쳐서 스쿠알아민을 합성하는 2가지 방법이 보고 되었다. 3 β -히드록시-5-콜레닉산(2)의 C5 이중결합을 환원하여 트랜스 AB 고리구조를 갖게 하기 위해서 C7 위치에 알릴 산화 반응으로 키토 그룹을 도입하고, C5 이중결합을 백금촉매하에서 환원하는 방법, C24 위치에 이소프로필 그룹을 도입하기 위해 카르복실 그룹을 알데히드 그룹으로 변환 시킨 후 이소프로필 그룹을 도입하는 방법, 그리고 C7 키토 그룹은 K-셀렉트라이드로 환원하고 벤질 그룹

으로 보호한 후 C3 그룹의 히드록시 그룹을 산화하는 방법으로 스쿠알아민 중간체(3)를 13단계에 걸쳐 제조하였다.

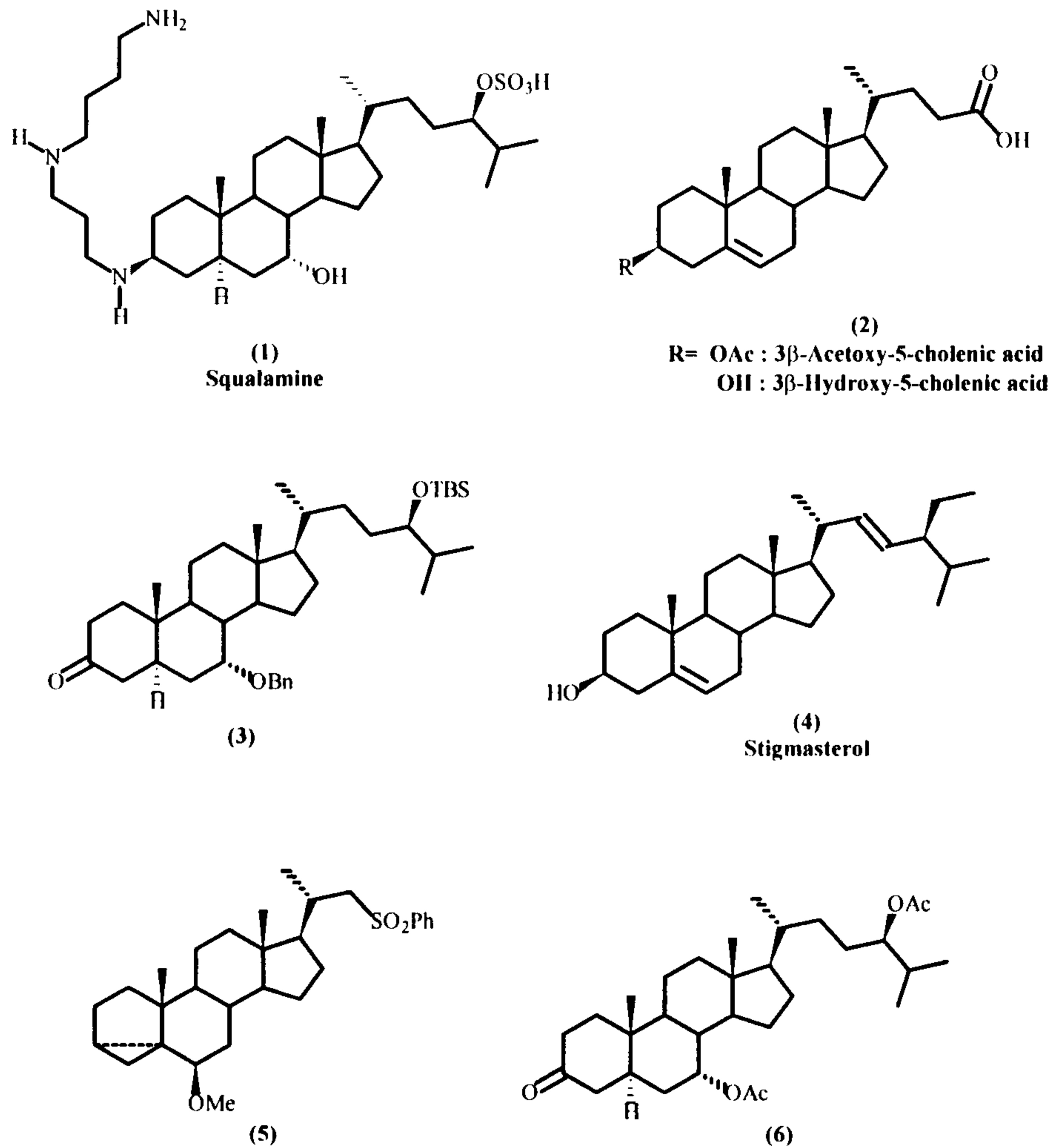


Figure 1

화합물(3)에 스퍼미딘을 C3 키토 그룹에 도입하고, C24 히드록시 그룹에 술폰화 시켜 설페이트 그룹을 도입하는 4단계의 반응으로 스쿠알아민을 제조하였다.

1995년에 모리아티 그룹에서는 스티그마스테롤(4)을 출발물질로 19 반응단계에 걸쳐 스쿠알아민(1) 제조방법을 보고 하였다. 메가닌 제약 회사의 키니 그룹에서도 스티그마스테롤(4)을 출발물질로 15 반응단계에 걸쳐 스쿠알아민 합성방법에 관한 연구 보고를 하였다.

스티그마스테롤(4)의 C3 히드록시 그룹과 C5 이중결합을 동시에 보호하고, 오존으로 C22 이중결합을 산화하여 i-스테롤 알데히드 화합물로 변환 시켰다. 그리고 알데히드 그룹을 환원하여 생성된 히드록시 그룹을 요오드 그룹으로 치환한 후 소듐 페닐술포네이트로 처리하여 C22 페닐술포 화합물(5)를 7단계의 반응으로 얻었다.

페닐술포 화합물(5)을 강염기로 처리하고 (2R)-1,2-에폭시-3-메틸부탄과 반응시켜 C24 위치에 히드록시 그룹과 이소프로필 그룹을 동시에 도입하였다. 그리고 보호 그룹이었던 C6 메톡시 그룹을 제거하여 C3 β -히드록시 그룹과 C5 이중결합이 다시 생성되었고, C3 β -히드록시 그룹과 C24 (R)-히드록시 그룹을 동시에 아세테이트 그룹으로 보호한 후 알릴 산화반응으로 C7 위치에 키토 그룹을 도입하여 이논 화합물을 얻었다. 이렇게 얻어진 이논 화합물은 액체 암모니아 용매하에서 리튬으로 환원하여 트랜스 AB 고리구조를 갖는 화합물을 제조하고, K-셀렉트라이드로 환원하여 C7 키토 그룹을 α -히드록시 그룹으로 변환시킨 후 아세테이트로 보호하여 3개의 히드록시 그룹이 모두 아세테이트로 보호된 화합물을 제조하였다. 이 화합물은 시안화나트륨으로 처리하면 C3 아세테이트 그룹만 선택적으로 제거 시킨후 생성된 히드록시 그룹은 산화하여 C3 키토 그룹으로 변환 시켜 화학식(6)로 표기되는 스쿠알아민 중간체를 16 단계에 걸쳐 제조하였다.

화합물(6)에 스퍼미딘을 3단계에 걸쳐 도입하여 C24 위치에 설페이트 그룹이 도입되지 않은 스쿠알아민을 제조하였다. 이 방법은 C24 위치의 히드록시 그룹의 에피머가 아닌 순수한 광학이성체를 제조하는 것으로서 천연 스쿠알아민과 같은 구조를 합성하는 기술이다.

국내에는 스테로이드 항생제에 관한 연구를 하는 곳은 없으며, 본 연구팀에서는 스테로이드 골격을 유지하며 cyclic amine 또는 acyclic amine기가 A- 또는 D-ring의 side chain에 존재하는 아미노스테로이드계 화합물과 아제티딘을 갖는 스테로이드계 화합물을 새로이 개발된 합성방법으로 제조하여 구조-활성 상관관계를 연구함으로써 새로운 스테로이드계 항생제 개발을 도모하고자 한다. 이러한 연구를 하기 위해 스쿠알아민 전합성 연구와 그의 중간체의 대량 합성에 관한 연구가 수행되고 있다.

제 3 장 연구개발수행 내용 및 결과

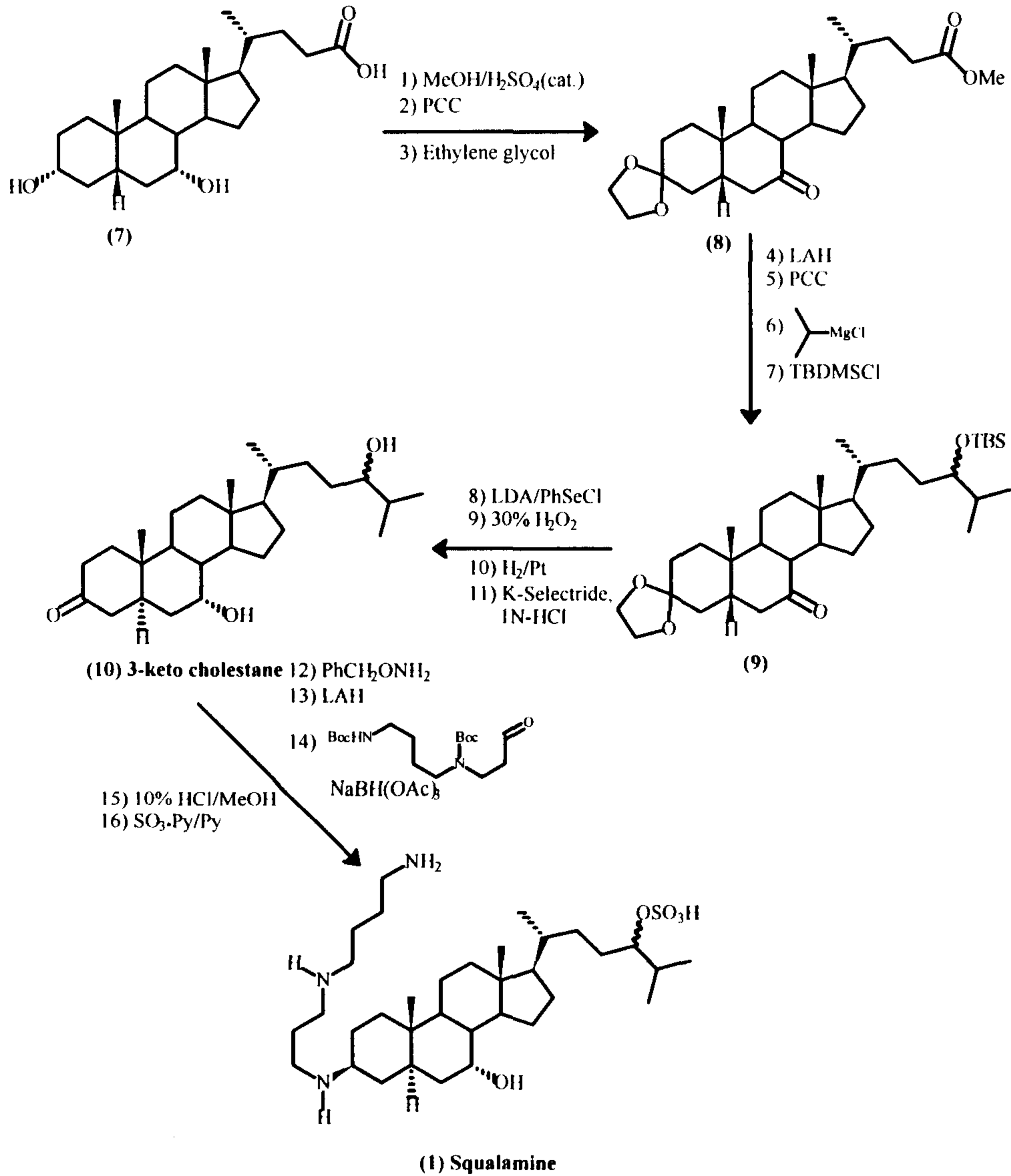
제 1절 연구개발수행 내용

1) 연구 내용

본 연구팀에서는 1차년도에 키노데옥시콜산(7)을 출발물질로 하여 16 단계의 반응공정을 통해 스쿠알아민(1)의 전합성 반응 조건을 확립하였다. 3-키토콜레스탄(10)은 스테로이드 계통의 신약 개발에 매우 중요한 중간체로서 출발물질인 키노데옥시콜산(7)의 시스형 AB 고리를 트랜스형으로 변환하여야 하며, C24 위치에 이소프로필 그룹을 도입하고, 그리고 C7 위치의 히드록시 그룹은 광학 입체 선택적 반응에 의해 도입되어야 한다. 이외에도 3-키토콜레스탄(10)은 여러 단계에 걸친 제조방법은 무수히 많을 것이다. 본 발명에서는 키노데옥시콜산(7)을 출발물질로 하고, C3 위치에 선택적인 키탈화 반응과 C24 위치에 이소프로필 그룹의 선택적 도입 방법, 그리고 AB 고리의 시스형을 트랜스형으로 변환하는 방법으로 다음과 같이 제조되었다.(Schem 1)

일반적인 에스테르화 반응으로 출발물질인 키노데옥시콜산(7)의 카르복실 그룹은 메탄올과 촉매인 진한 황산하에서 환류하여 메틸 에스테르를 제조한 후 피리디니움크로로크로메이트로 3,7-디히드록시 그룹을 산화하여 정량적인 수율로 3,7-디키토 화합물을 얻었다. 3,7-디키토 화합물은 에틸렌글리콜과 촉매인 파라톨루엔술폰산 하에서 일반적인 키탈화 반응으로는 C3와 C7 키토 그룹에 하나 또는 둘다 키탈 그룹으로 보호되어진다. 그러나 에테르를 용매로 사용하고 실온에서 6시

간 교반하면 선택적으로 3-위치의 키토 그룹만 키탈 그룹으로 보호하여 95% 이상의 좋은 수율로 키탈 화합물(8)를 제조 하였다. 키탈 화합물(8)로 부터 C24 위치에 이소프로필 그룹을 도입하기 위해서 에스테르 그룹을 알데히드 그룹으로 변환한 후 그리냐드 반응으로 도입

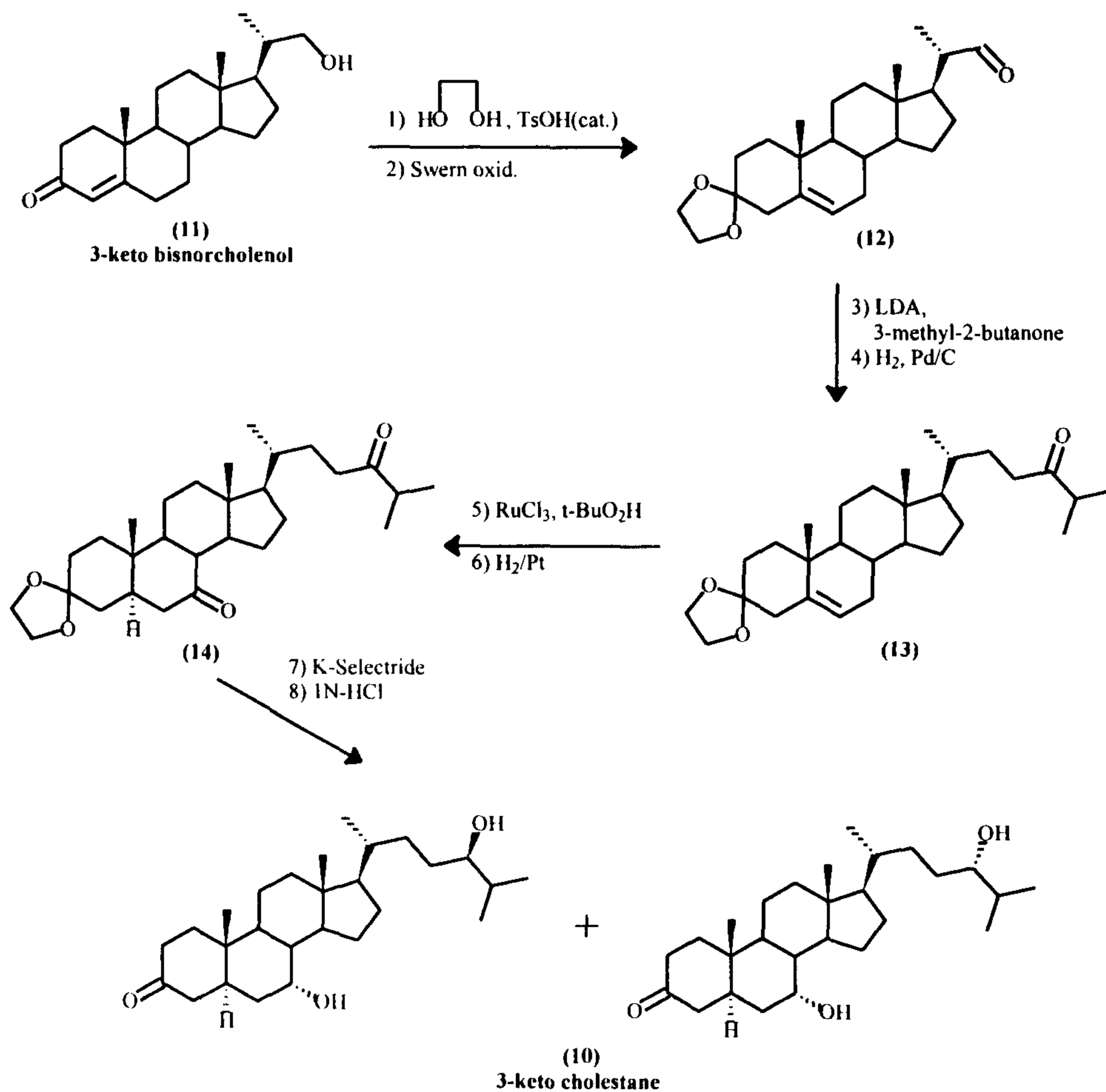


Scheme 1

할 수 있었다. 키탈 화합물(8)의 메틸 에스테르 그룹을 알데히드 그룹으로 변환하기 위해 리튬알루미늄하이드라이드로 환원하면 메틸 에스테르기와 7-위치의 키토 그룹이 7,24-디히드록시 그룹으로 변환되고, 이 알콜 그룹들은 다시 피리다늄크로로크로메이트로 산화하여 C24-위치에 알데히드 그룹과 C7-위치에 키토 그룹을 동시에 도입한 후 이소프로필 마그네슘 크로라이드를 반응 시켜 24-위치의 알데히드 그룹에만 이소프로필 그룹을 선택적으로 도입하여 이소프로필 그룹이 도입된 2차 알콜 화합물을 제조하였다. 이때 생성된 C24-히드록시 그룹은 테트라부틸디메틸실릴크로라이드로 처리하여 테트라부틸디메틸실릴 그룹으로 보호된 TBS 화합물(9)을 좋은 수율로 얻었다. 그리고 AB 시스 고리구조를 트랜스 고리구조로 변환하기 위해 리튬 디이소프로필 아마이드와 페닐셀레늄 브로마이드로 처리하여 C6 위치에 페닐셀레나이드를 도입 한 후 30% 과산화 수소로 산화하여 C6, C7-위치에 이중결합이 도입된 이논화합물을 얻고, 이논 화합물은 백금 촉매하에 수소화 반응 시켜 트랜스 고리구조를 갖는 화합물을 제조하였다. 트랜스 고리 구조를 갖는 화합물의 C7-위치의 키토 그룹은 K-셀렉트라이드로 처리하여 광학 입체 선택적 알파 히드록시 그룹으로 환원시키고, 4N-염산으로 처리하여 보호 그룹인 키탈 그룹과 TBS 그룹을 동시에 제거하여 3-키토 콜레스탄(10)을 제조하였다.

본 연구의 2차년도에서는 스쿠알아민과 유도체들을 합성하는데 매우 중요한 중간체인 3-키토콜레스탄(10)을 대량 확보하기 위해 큰 규모의 반응공정 연구를 수행하였으나 시스 고리구조를 트랜스 고리구조로 변환하는 공정은 여전히 많은 문제점을 갖고 있다. 키노데옥시콜산은 국내에서 구입이 용이하여 출발물질로 사용하였지만 여전히 비싼 출

발물질이다. 이러한 단점등을 보완하기 위해서 값이 싼 스테로이드인 스티그마스테롤(4) 또는 3-케토비스놀콜레놀(11)에서 스쿠알아민의 전합성에 관한 연구도 수행 하였다. 특히 3-케토비스놀콜레놀(11)에서 부터 스쿠알아민 전합성에 대한 반응공정을 확립하여 특허를 출원하였다. 3-케토비스놀콜레놀(11)로부터 스쿠알아민의 중간체인 3-키토콜레스탄(10)의 합성 연구는 다음과 같이 수행 하였다.(Scheme 2)

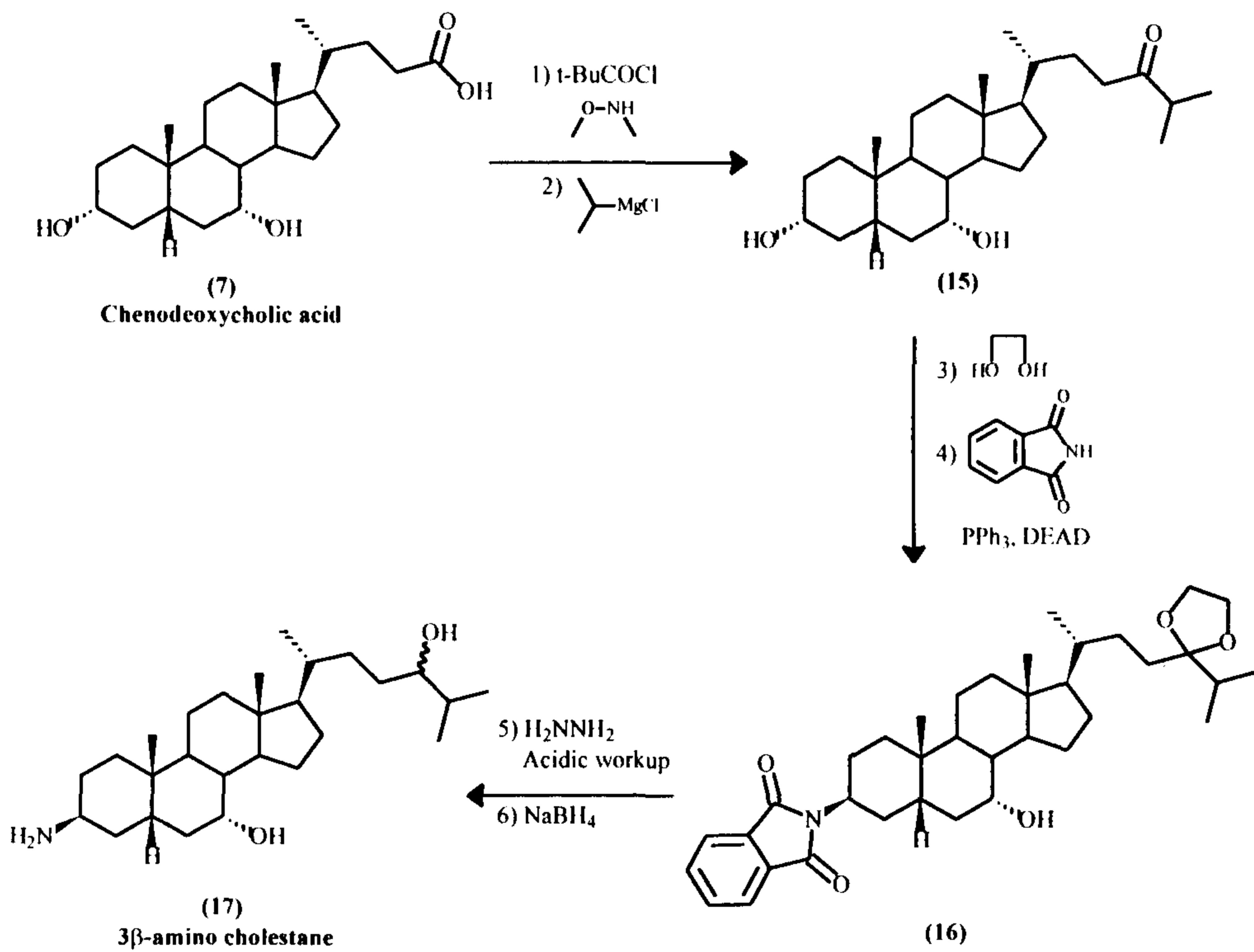


Scheme 2

3-케토비스놀콜레놀(11)에 에틸렌글리콜을 벤젠에서 산촉매 존재하 환

류시키면 케토 그룹은 키탈로 보호되고, 이때 이중결합은 C4 위치에서 C5 위치로 이동된 키탈 화합물을 정량적인 수율로 얻을 수 있었다. 키탈 화합물은 Swern oxidation하여 C22 알콜 그룹을 산화시켜 알데히드 화합물(12)을 95% 수율로 얻었다. 이 반응단계에서 여러 산화반응을 시켜 보았지만 C20-메틸 그룹이 에피머화되었다. LDA를 사용하여 반응속도론적으로 조절된 2-메틸-3-부탄논 enolate를 생성한 후 얻어진 알데히드 화합물(12)에 반응시켜 C22 위치에 이중결합을 갖는 이논 화합물을 만들었다. 이논 화합물은 또한 C5 위치에도 이중결합을 갖고 있으나, 팔라듐-카본 촉매하에 상압에서 수소 환원을 하여 선택적으로 C22의 이중결합만 환원시켜 콜레스탄온 화합물(13)을 각각 좋은 수율(76%, 95%)로 얻었다. 콜레스탄온 화합물(13)의 C7 위치에 루테니움클로라이드 촉매하에 t-부틸퍼옥사이드로 알릴릭 산화를 시켜 73%의 수율로 이논 화합물을 만들었고, 이논 화합물은 백금 촉매하에 수소환원을 하여 AB 트랜스 고리구조를 갖는 케토화합물(14)를 92% 수율로 얻었다. 이렇게 얻어진 케토 화합물(14)의 C7, C24 케토 그룹을 K-셀렉트라이드로 동시에 환원하여 디올화합물을 63%의 수율로 얻었다. 이때 C24 히드록시 그룹은 에피머(1:1)로 생성되어 컬럼크로마토 그래피를 하여 분리하였다. 부산물인 C24(S) 히드록시 그룹은 미쯔노브 반응을 하여 원하는 C24(R) 구조를 갖는 3-케토 콜레스탄 화합물(10)로 변환시킬 수 있다. 스쿠알아민의 전합성에 중요한 중간체인 3-케토 콜레스탄(10)을 값이 싼 3-케토 비스놀콜레놀(11)에서부터 8단계의 반응공정으로 합성할 수 있었다. 1차년도에 확립한 반응공정보다 짧고, 각각의 단계의 수율도 좋았다. 이렇게 얻어진 3-케토 콜레스탄(10)로부터 스쿠알아민(1)의 전합성과 여러 유도체의 합성을 수행할 수 있었다.

또한 천연 스쿠알아민은 AB 트랜스 고리구조를 갖고 있으나, AB 시스 고리구조를 갖는 유도체를 합성하기 위해 새로운 제조방법을 연구하였다. 키노데옥시콜산은 AB 시스 고리구조를 갖고 있으며, 스쿠알아민의 모핵으로서 C24 위치에 이소프로필 그룹을 도입하고 C3 위치에 아미노 그룹을 도입하면 AB 시스 고리구조를 갖는 3 β -아미노 콜레스탄(17)로 변환 시킬 수 있다.(Scheme 3)



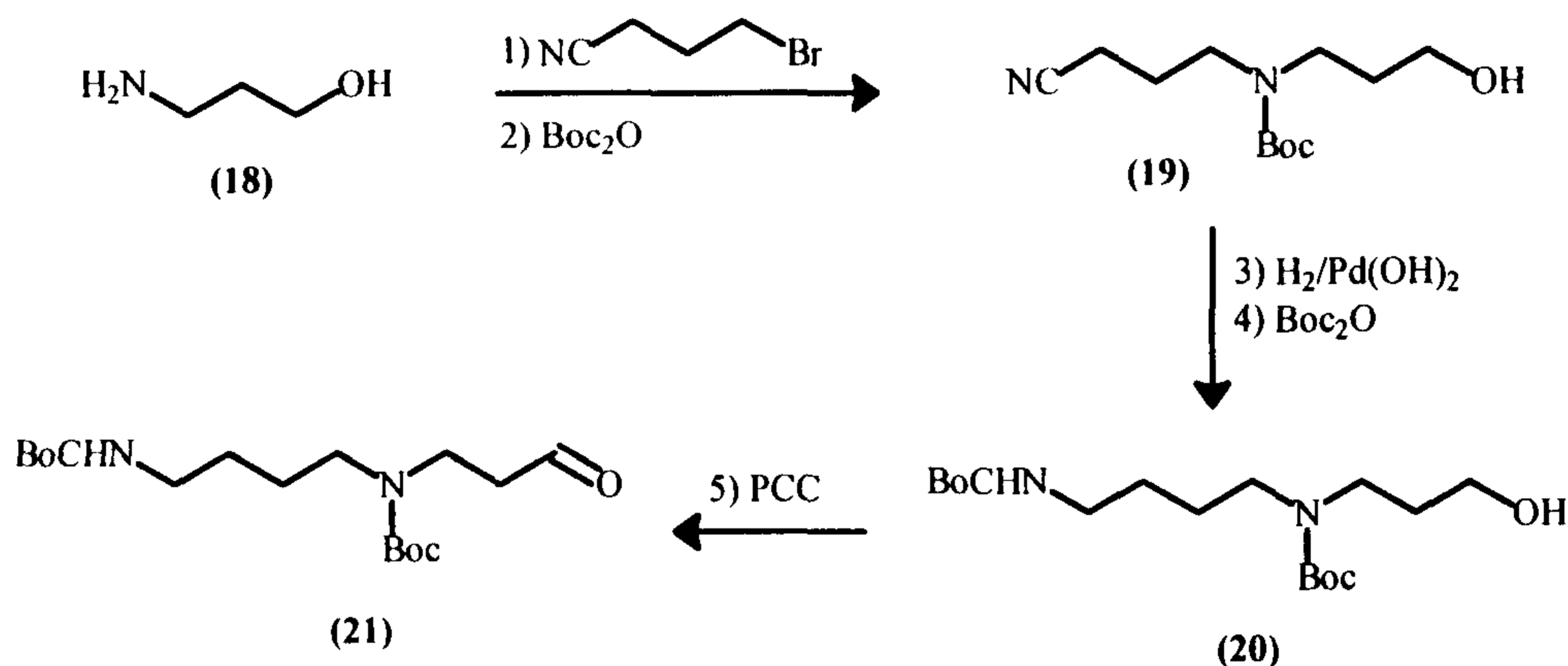
Scheme 3

국내에서 용이하게 구입 할 수 있는 키노데옥시콜산(7)을 출발물질로 하여 6단계의 반응공정으로 중간체인 3 β -amino cholestane(17)의 합성 공정을 확립하였다. 키노데옥시콜산에 O,N-디메틸 히드록실 아민

을 카보실산 그룹에 도입하여 Weinreb 아마이드 화합물을 얻고, 얻어진 아마이드에 이소프로필 마그네슘 클로라이드를 반응시켜 이소프로필 그룹이 도입된 케토화합물(15)을 얻었다. 얻어진 케토 화합물의 3-히드록시 그룹에 선택적으로 미쯔노브 반응을 시켜 프탈아미드 그룹을 도입 시켜 보았으나 반응이 진행되지 않았다. 그러나 C24 케토 그룹을 에틸렌글리콜로 반응시켜 키탈 그룹으로 보호한 후 미쯔노브 반응은 정량적으로 진행되어 3-프탈아미도-24-키탈 콜레스탄(16)을 얻었다. 이렇게 얻어진 3-프탈아미도-24-키탈 콜레스탄(16)은 정제하지 않고 80% 하이드라진과 메탄올 용매 하에서 환류시킨 후 2N-HCl용액으로 처리하였다. 이때 C24 키탈 그룹도 제거되어 3베타-아미노-24-케토 콜레스탄을 얻었다. 얻어진 3 β -아미노-24-케토 콜레스탄 화합물을 소듐보로하이드라이드로 C24 케토 그룹을 알콜그룹으로 환원하여 3 β -아미노 콜레스탄(17) 화합물을 얻었다. 이때 알콜 그룹은 1:1 에피머로 생성 되었다. 이 에피머는 컬럼 크로마토 그래피 하여 분리 할 수 있었다. 얻어진 순수한 두 이성체를 각각 새로운 스쿠알아민 유도체를 합성하는데 사용 하였다. 중요한 중간체인 3 β -아미노 콜레스탄(17)은 AB 시스 고리구조를 갖고 있으며, AB 트랜스 고리구조를 갖는 스쿠알아민 중간체보다 쉽게 합성할 수 있었다. 이렇게 얻어진 이 중간체로부터 C3 위치의 아미노 그룹에 폴리 아민인 스퍼미딘을 도입하여 스쿠알아민 유도체를 합성 연구를 수행하였다. 스퍼미딘 그룹은 다음과 같은 방법으로 합성하였다.(Scheme 4)

3-아미노프로판올(18)에 4-브로모부티로니트릴을 탄산칼륨하에서 반응시켜 사이아노아미노알콜(19)를 만들고, 사이아노 그룹은 팔라듐 촉매하에서 환원시키면 아민 그룹으로 환원된다. 얻어진 아민 그룹에

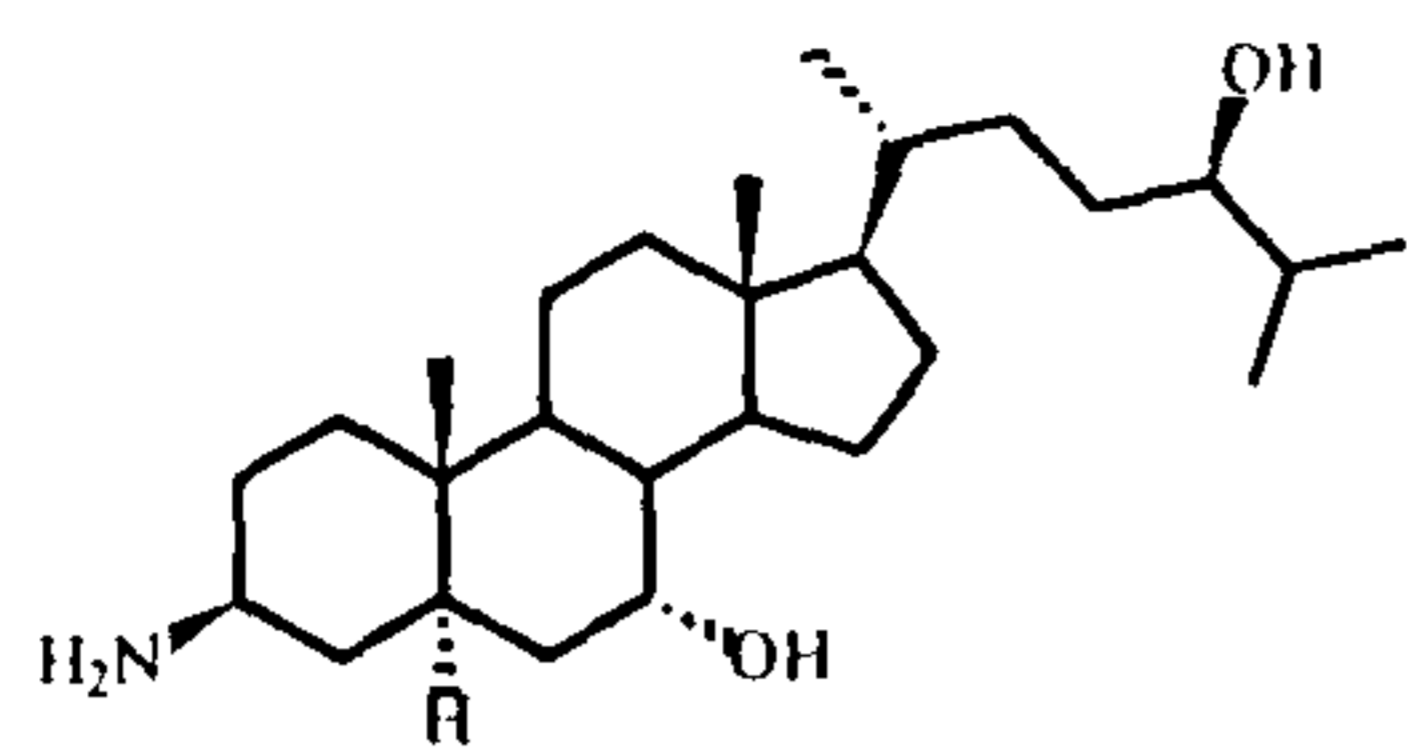
Boc₂O로 반응시켜 Boc로 보호된 디아민 알콜(20)을 얻을 수 있었다. 디아민 알콜(20)은 PCC로 산화하여 알콜 그룹을 알데히드 그룹으로 산화시켜 디아미노 알데히드 화합물(21)을 얻었다.



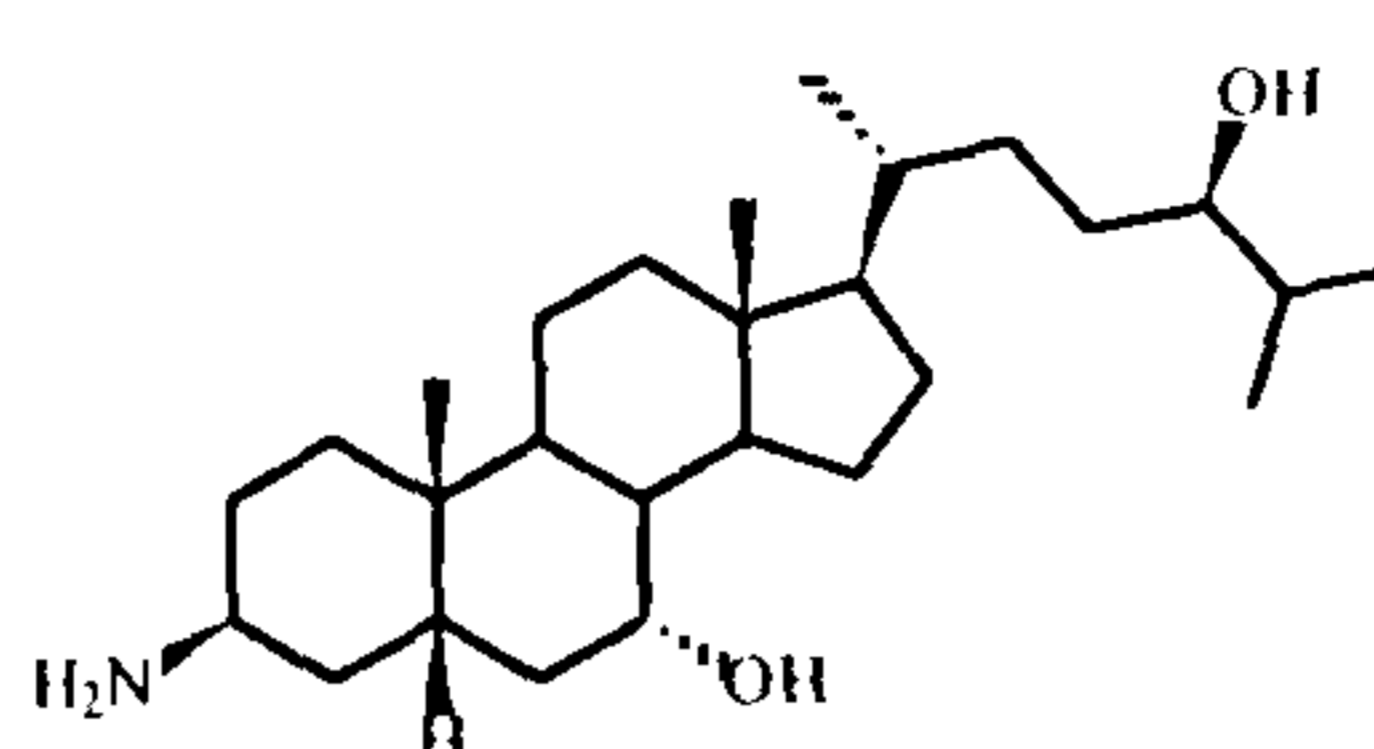
Scheme 4

디아미노 알데히드(21) 화합물을 3-아미노 콜레스탄 에피머들에 반응시켜 스쿠알아민(1)과 그의 유도체들을 만들었다. 3-아미노 콜레스탄 (17)과 디아미노 알데히드(21)를 NaBH(OAc)₃ 존재 하에서 reductive amination하여 스퍼미딘 그룹을 도입 할 수 있었다. 그리고 C24 히드록시 그룹에 선택적으로 술폰화시켜 설파이트 그룹을 도입하여 스쿠알아민(1)을 합성하였다. 다른 에피머들도 같은 방법으로 스쿠알아민 유도체들을 합성하였다. 이외에도 3-아미노 비스놀콜라올도 같은 방법으로 스쿠알아민 유도체를 합성 할 수 있었다. 3-아미노 콜레스탄에 아미노프로판알을 reductive amination하여 아미노프로필 그룹을 3-아미노 콜레스탄에 도입한 후 여러 유도체들을 도입하여 다양한 스쿠알아민 유도체 합성을 할 수 있다.(Scheme 5)

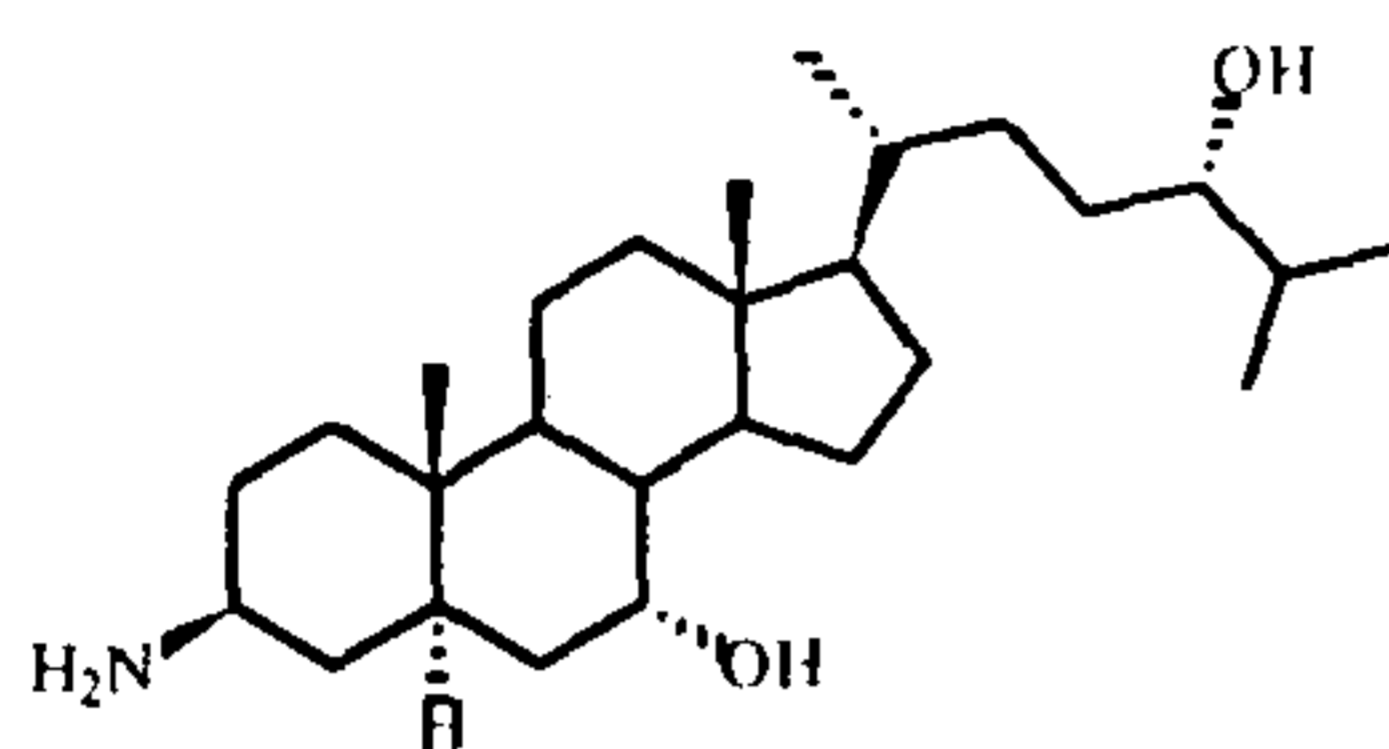
Scheme 5



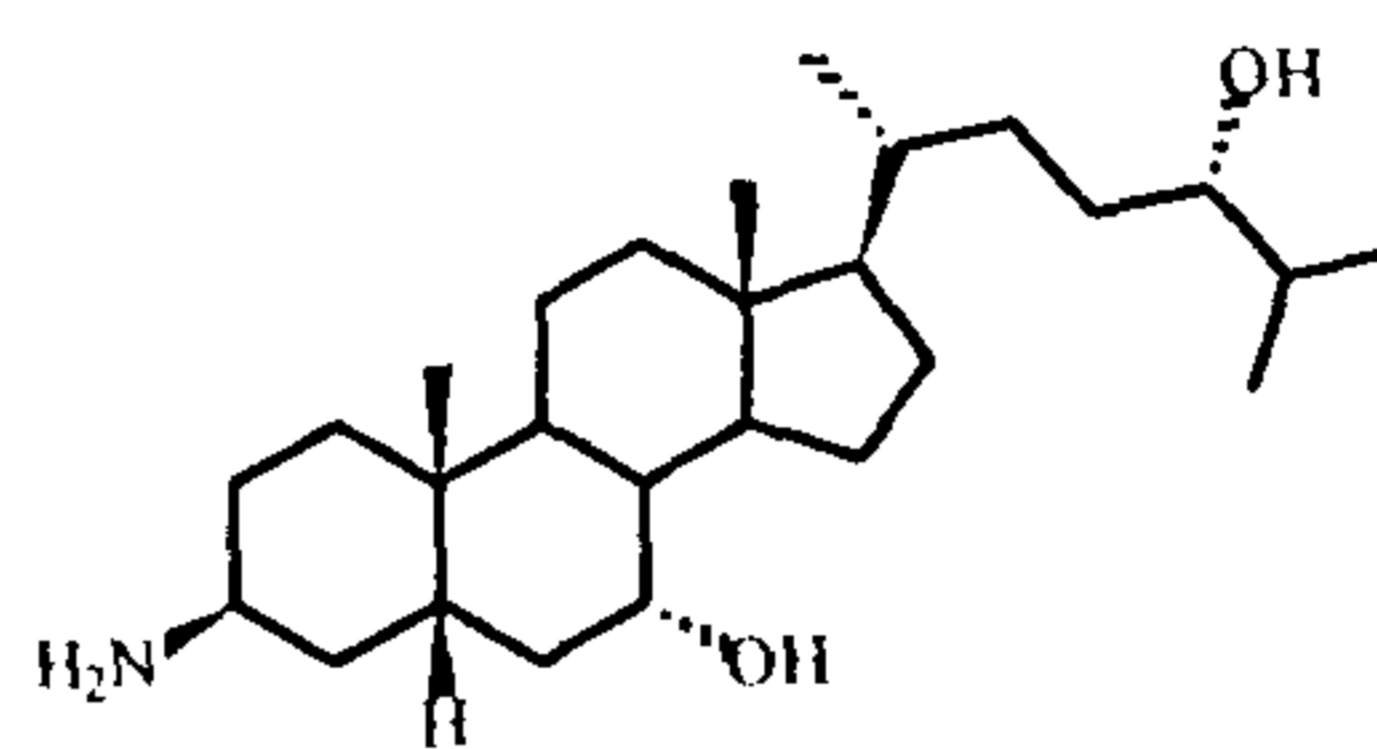
3 α -amino-24(R)-cholestane
17-I



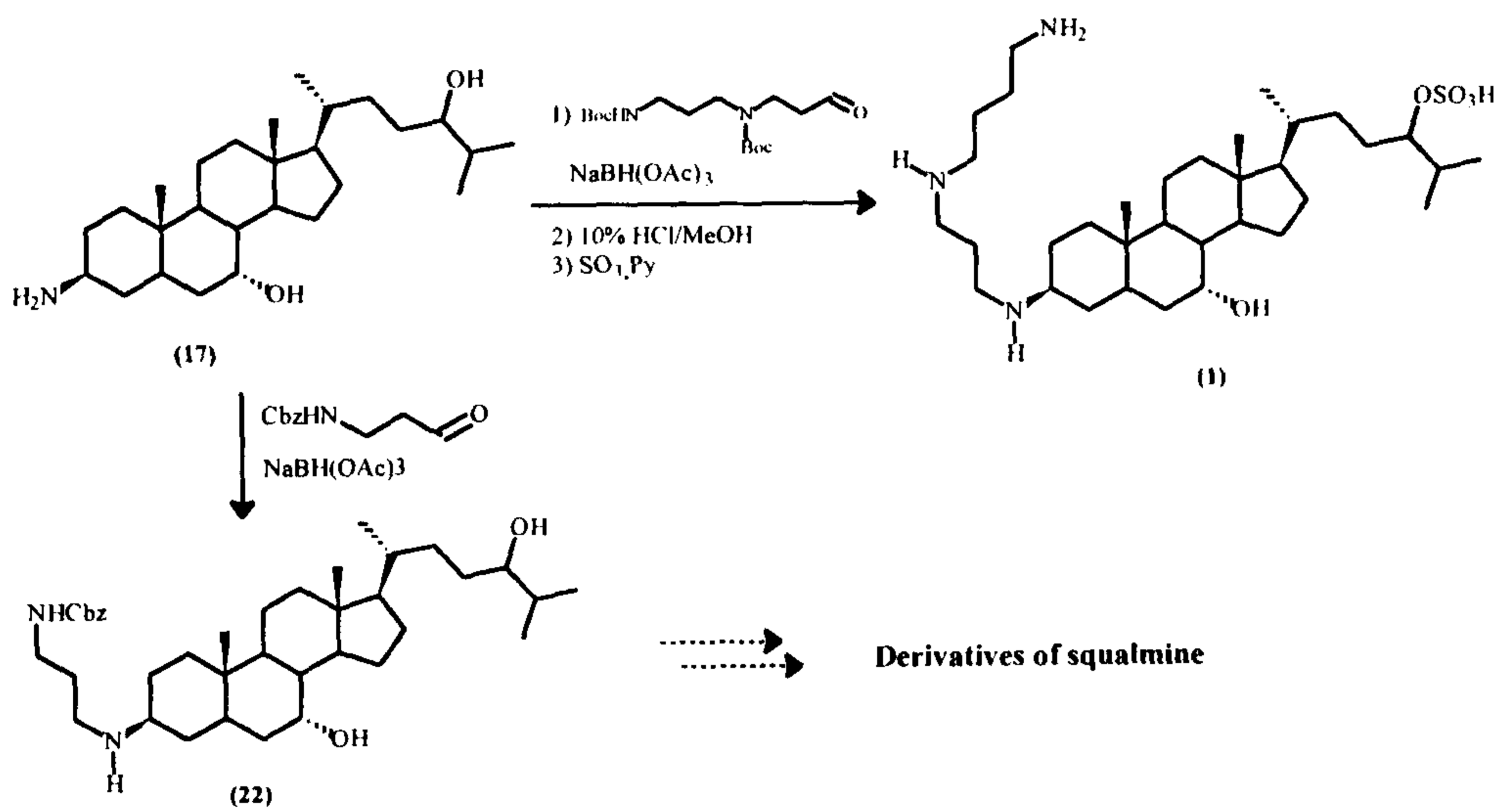
3 α -amino-24(R)-5 α -cholestane
17-II



3 α -amino-24(S)-cholestane
17-III

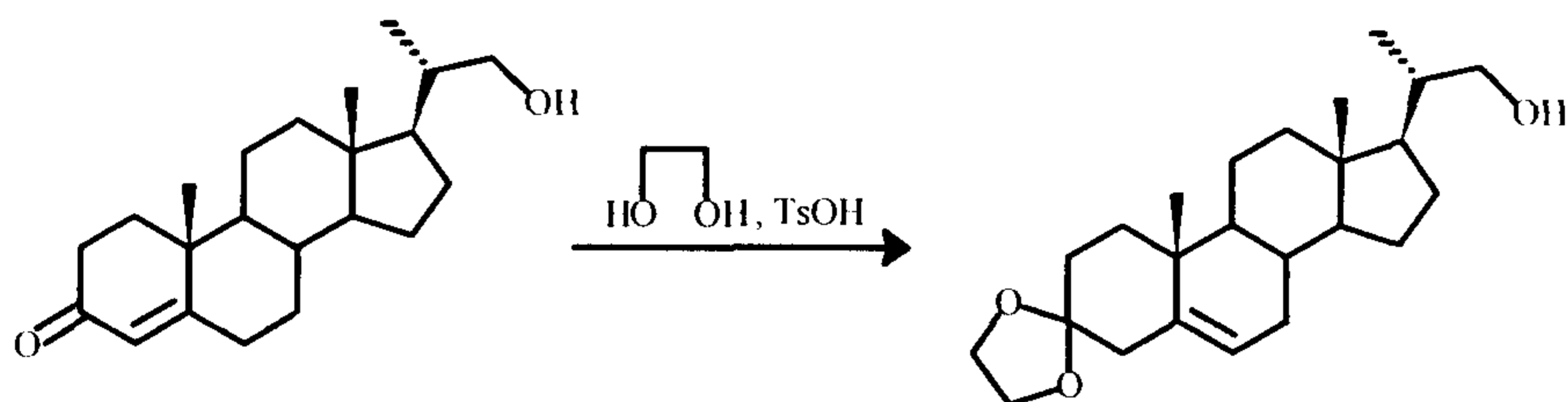


3 α -amino-24(S)-5 α -cholestane
17-IV



2) 실험 내용

1. 3-케토-비스노콜레놀(11)의 키탈화 반응



3-케토-비스노콜레놀(11) 5.00g(15.15 mmol)을 벤젠 300mL에 녹인 후 촉매량의 톨루엔술폰산 30mg과 에틸렌 글리콜 16mL(227.25 mmol)을 넣고 22시간 동안 환류 교반하였다. 반응혼합물을 냉각시킨 후 포화 중탄산나트륨(NaHCO_3) 수용액을 넣고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 포화 소금물로 세척하고, 무수 망초(Na_2SO_4)로 건조한 후 감압하에서 용매를 제거하였다. 얻은 혼합물을 실리카겔 칼럼으로 분리 정제하여 키탈 화합물을 얻었다.

수율: 5.44g, 96%

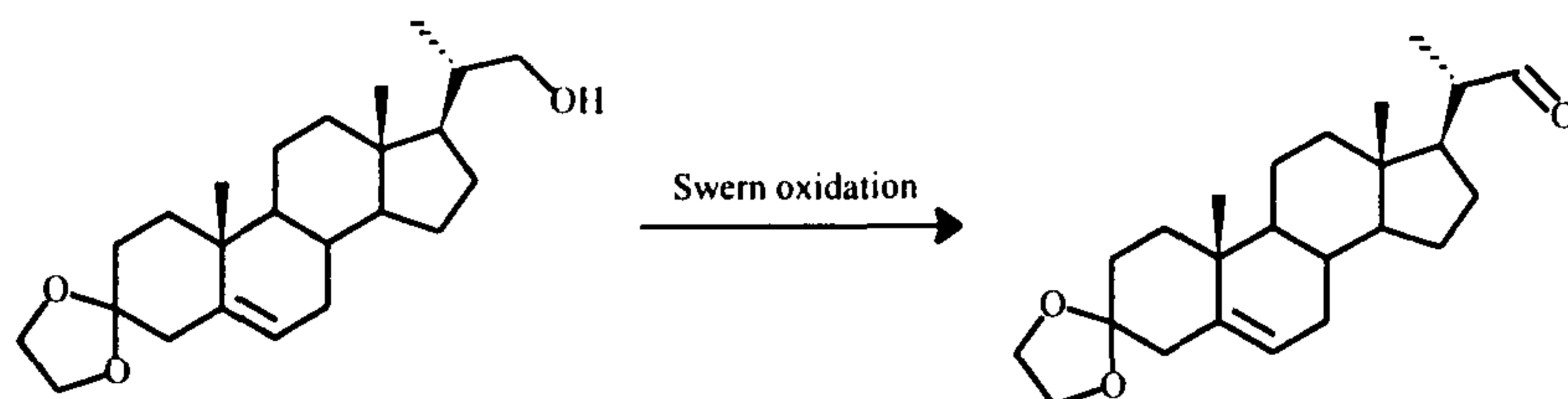
mp 173-174°C

IR (KBr) 3443, 2943, 2881, 1098 cm^{-1}

^1H NMR δ 0.703(s, 3H, 18- CH_3), 1.028(s, 3H, 19- CH_3), 1.048(d, $J=6.6\text{Hz}$, 3H, 21- CH_3), 3.34(dd, $J=10.2, 6.9\text{Hz}$, 1H, 22- H_a), 3.62(dd, $J=10.2, 3.0\text{Hz}$, 1H, 22- H_b), 3.95(m, 4H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 5.34(d, $J=2.7\text{Hz}$, 1H, 6-H)

MS(relative intensity, %) m/z 375($\text{M}+1$, 2), 374(M' , 7), 99(100), 55(19)

2. 3-에틸렌키탈-23,24-비스노콜라-5엔-22-알 합성



3구 둥근 플라스크에 2개의 dropping funnel을 설치하고, 한쪽에는 건조된 DMSO (1.3 mL, 17.16 mmol, 2.2 eq)에 건조된 디클로로메탄 (5 mL)의 혼합 용액을 넣고 다른 한쪽에는 3-에틸렌키탈-23,24-비스토콜라-5엔-22올 (2.90 g, 7.80 mmol)를 건조된 디클로로메탄 (10 mL)에 녹인 용액을 넣는다. 이때 반응 중 가스가 발생되기 때문에 황산칼슘 (CaSO₄) 건조관을 장치한다. 둥근 플라스크에 옥살릴 크로라이드 (0.8 mL, 8.58 mmol, 1.1 eq) 와 건조된 디클로로메탄 (6 mL)을 넣고 -60°C에서 기계식 교반기로 교반하면서 먼저 디메틸설폭사이드를 2분 동안 적하하고 나서 3-에틸렌키탈-23,24-비스토콜라-5엔-22올을 5분 이내에 적하시키고 15분간 교반하였다. 트리에틸아민 (5.5 mL, 5.0 eq)을 반응용액에 넣어주어 흰 염이 생기는 것을 확인한다. 5분 후 반응액을 천천히 상온으로 온도를 올린 다음, 물(30 mL)을 넣어준다. 반응 혼합물에 10% 염산을 넣고, 디클로로메탄으로 추출한다. 유기층을 포화 소금물로 세척한 다음, 무수 망초로 건조하고 감압하에서 용매를 제거하여 얻은 혼합물을 실리카겔 칼럼으로 분리 정제하여 3-에틸렌키탈-23,24-비스노콜라-5엔-22-알를 얻었다.

수율: 2.70g, 94%

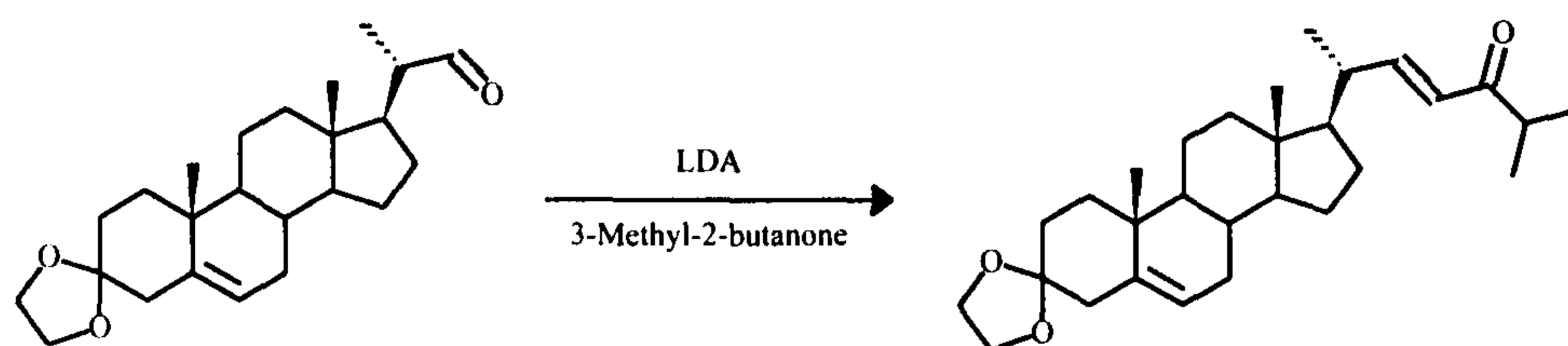
mp 136-138°C

IR (KBr) 2935, 2889, 2732, 1724, 1083 cm^{-1}

$^1\text{H NMR}$ δ 0.738(s, 3H, 18- CH_3), 1.034(s, 3H, 19- CH_3), 1.128(d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H, 21- CH_3), 3.95(m, 4H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 5.35(d, $J=2.7\text{Hz}$, 1H, 6-H), 9.57(s, 1H, 22-CHO)

MS(relative intensity, %) m/z 372(M^+ , 21), 99(88), 55(100);

3. 3-에틸렌키탈-콜레스트-5,22-디엔-24-온 합성



3-메틸-2-부탄온(0.4 mL, 4.00 mmol, 1.5 eq)을 건조된 테트라히드로퓨란(5 mL)에 녹인 후 -78°C , 아르곤 기류하에서 2M 리튬디이소프로필 아마이드 용액(2.2 ml, 4.30 mmol, 1.6 eq)을 주사기를 이용하여 천천히 적하한 후 2시간 교반하고 3-에틸렌키탈-23,24-비스노콜라-5엔-22-알(1.00 g, 2.70 mmol)에 건조된 테트라히드로퓨란(10 mL)에 녹인 용액을 천천히 적하하였다. 3시간 지난 후 온도를 서서히 상온으로 올려주면서 8시간 교반하였다. 반응이 완결된 것을 확인한 후 반응 혼합물에 포화 암모늄클로라이드 용액을 넣고, 에틸아세테이트로 추출하였다. 유기층을 포화 소금물로 세척한 다음, 무수 망초로 건조하고 감압하에서 용매를 제거하였다. 얻은 혼합물을 일차적으로 실리카겔 칼럼으로 분리 정제한 후 크로마토트론으로 분리하여 3-에틸렌키탈-콜레스트-5,22-디엔-24-온과 3-에틸렌키탈-22-히드록시 콜레스트

-5-엔-24-온을 각각 얻었다.

3-에틸렌키탈-콜레스트-5,22-디엔-24-온

수율: 890mg, 76%

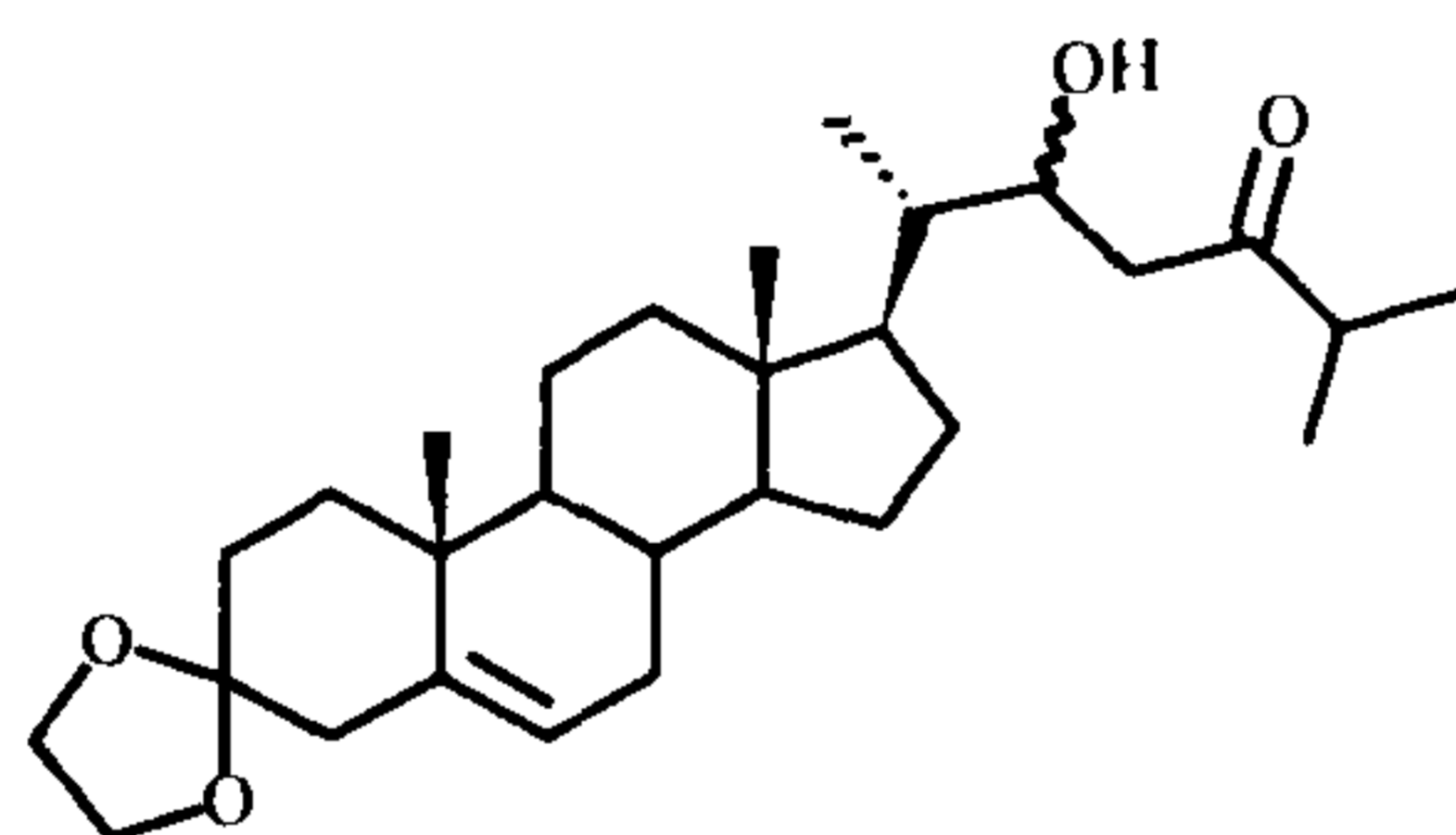
mp 148-149°C

IR (KBr) 2969, 2938, 2883, 1693, 1627, 1460, 1366, 1105 cm^{-1} ; ^1H

NMR δ 0.726(s, 3H, 18- CH_3), 1.048(s, 3H, 19- CH_3), 1.102(d, $J=6.9\text{Hz}$, 6H, 26, 27- CH_3), 1.103(dd, $J=6.9\text{Hz}$, 3H, 21- H_a), 2.84(septet, $J=6.9$, 1H, 25-H), 3.95(m, 4H, $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{O}-$), 5.35(d, $J=2.7\text{Hz}$, 1H, 6-H), 6.07(d, $J=15.8\text{Hz}$, 23-H), 6.72(dd, $J=15.8, 8.6\text{Hz}$, 22-H)

MS(relative intensity, %) m/z 440(M- C_4H_9 , 2), 99(100)

3-에틸렌키탈-22-히드록시 콜레스트-5-엔-24-온



수율: 22mg, 16%

mp 150°C

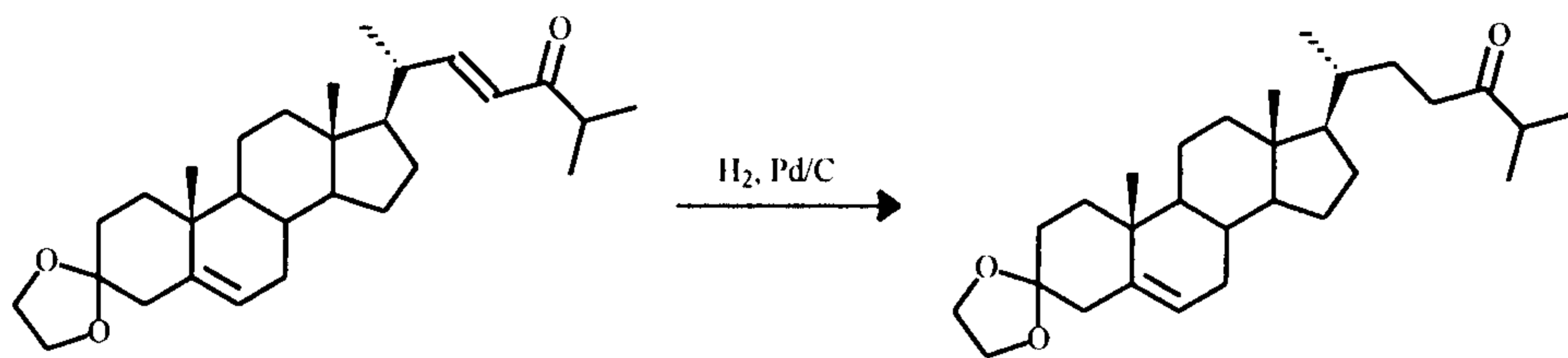
IR (KBr) 2968, 2925, 2857, 1704, 1459, 1099 cm^{-1}

^1H NMR δ 0.670(s, 3H, 18- CH_3), 0.817(d, $J=6.9\text{Hz}$, 3H, 21- CH_3), 1.022(s, 3H, 19- CH_3), 1.088(d, $J=6.9\text{Hz}$, 12H, 26,26',27,27'- CH_3),

2.65(m, 2H, 25,25'-H), 3.95(m, 4H, -OCH₂CH₂O-), 5.35(d, *J*=2.7Hz, 1H, 6-H)

MS(relative intensity, %) *m/z* 526(M⁺,3), 483(M-C₃H₇, 2), 441(M-2C₃H₇+1, 2) 99(100)

4. 3-에틸렌키탈-콜레스트-5엔-24-온(13) 합성



3-에틸렌키탈-콜레스트-5,22-디엔-24-온(450 mg, 0.91 mmol)을 에틸 아세테이트 (30 mL)에 녹인 용액에 5% Pd/C 촉매 (30 mg)를 넣고 상온 1기압의 수소하에서 4시간 동안 반응시켰다. 반응이 완결된 것을 확인한 후 반응혼합물을 셀라이트 칼럼에 통과시켜 촉매를 제거하고 에틸 아세테이트로 여러 번 세척한 후 용매를 감압하에서 제거하였다. 얻은 혼합물을 실리카겔 칼럼으로 분리 정제하여 3-에틸렌키탈-콜레스트-5엔-24-온을 얻었다.

수율: 382 mg, 95%

mp 143-145°C

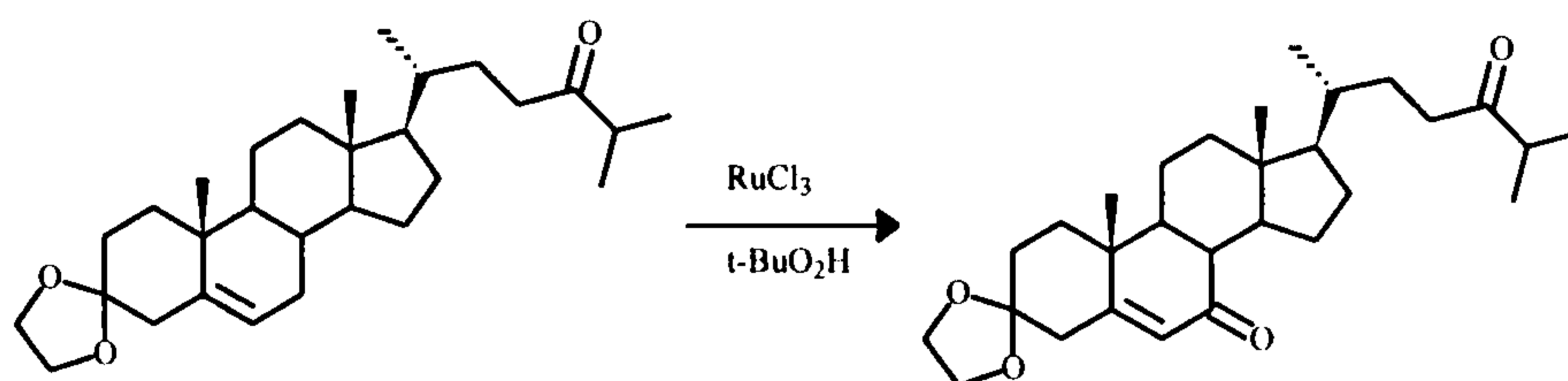
IR (KBr) 2628, 2865, 1701, 1459, 1102 cm⁻¹

¹H NMR δ 0.678(s, 3H, 18-CH₃), 0.916(d, *J*=6.0Hz, 3H, 21-CH₃),

1.025(s, 3H, 19-CH₃), 1.091(d, *J*=6.9Hz, 6H, 26, 27-CH₃), 2.62(m, 1H, 25-H), 3.94(m, 4H, -OCH₂CH₂O-), 5.35(d, *J*=2.7Hz, 1H, 6-H)

MS(relative intensity, %) *m/z* 442(M⁺, 5), 99(100)

5. 3-에틸키타-콜레스트-5-엔-7,24-디온 합성



3-에틸렌키타-콜레스트-5엔-24-온(700 mg, 1.58 mmol)를 시클로헥산 15ml에 녹인 다음 촉매 루테니움클로라이드(RuCl₃)를 넣고 15-20°C를 유지하면서 70% *t*-부틸하드로퍼옥사이드로 산화 반응시켜 3-에틸키타-콜레스트-5-엔-7,24-디온을 얻었다.

수율: 526mg, 73%

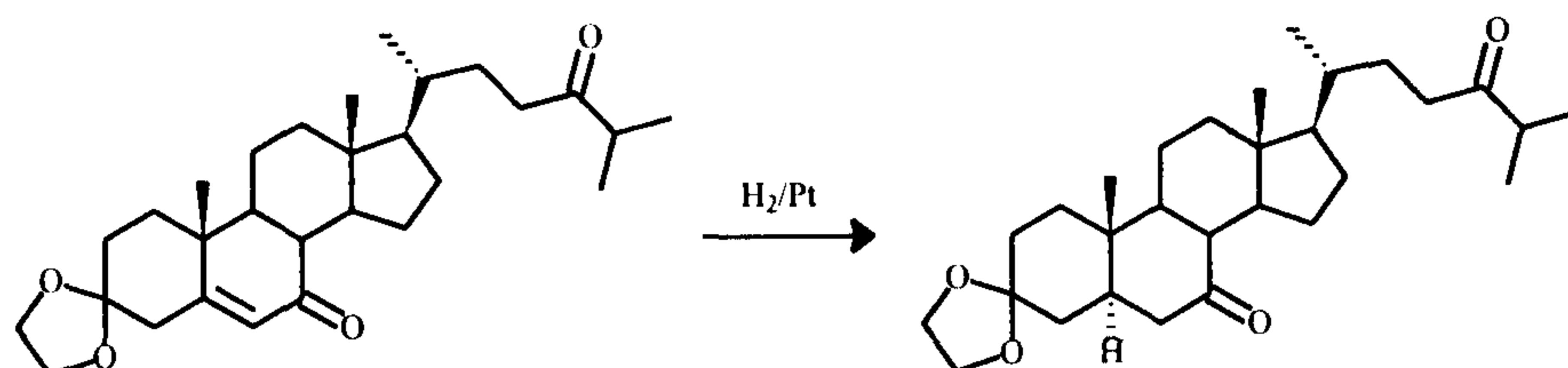
mp 172°C

IR (KBr) 2924, 2855, 1702, 1669, 1459, 1378, 1102 cm⁻¹

¹H NMR δ 0.684(s, 3H, 18-CH₃), 1.924(d, *J*=6.9Hz, 3H, 21-CH₃), 1.092(d, *J*=6.6Hz, 6H, 26,27-CH₃), 1.204(s, 3H, 19-CH₃), 3.95(m, 4H, -OCH₂CH₂O-), 5.66(d, *J*=1.8Hz, 1H, 6-H)

MS(relative intensity, %) *m/z* 456 (M⁺, 5), 99(100)

6. 3-에틸렌키탈-5 α -콜레스트-7,24-디온(14) 합성



3-에틸키탈-콜레스트-5-엔-7,24-디온(400 mg, 0.88 mmol)을 에틸아세테이트 15ml에 녹인 후 백금 촉매를 넣고, 1기압 수소하에서 10시간 동안 반응을 시켰다. 반응이 완결된 후 반응물을 셀라이트 칼럼을 통해 여과하여 촉매를 제거하고 여액을 감압 농축하였다. 얻은 혼합물은 실리카겔 칼럼으로 분리 정제하여 3-에틸렌키탈-5 α -콜레스트-7,24-디온을 얻었다.

수율: 370 mg, 92%

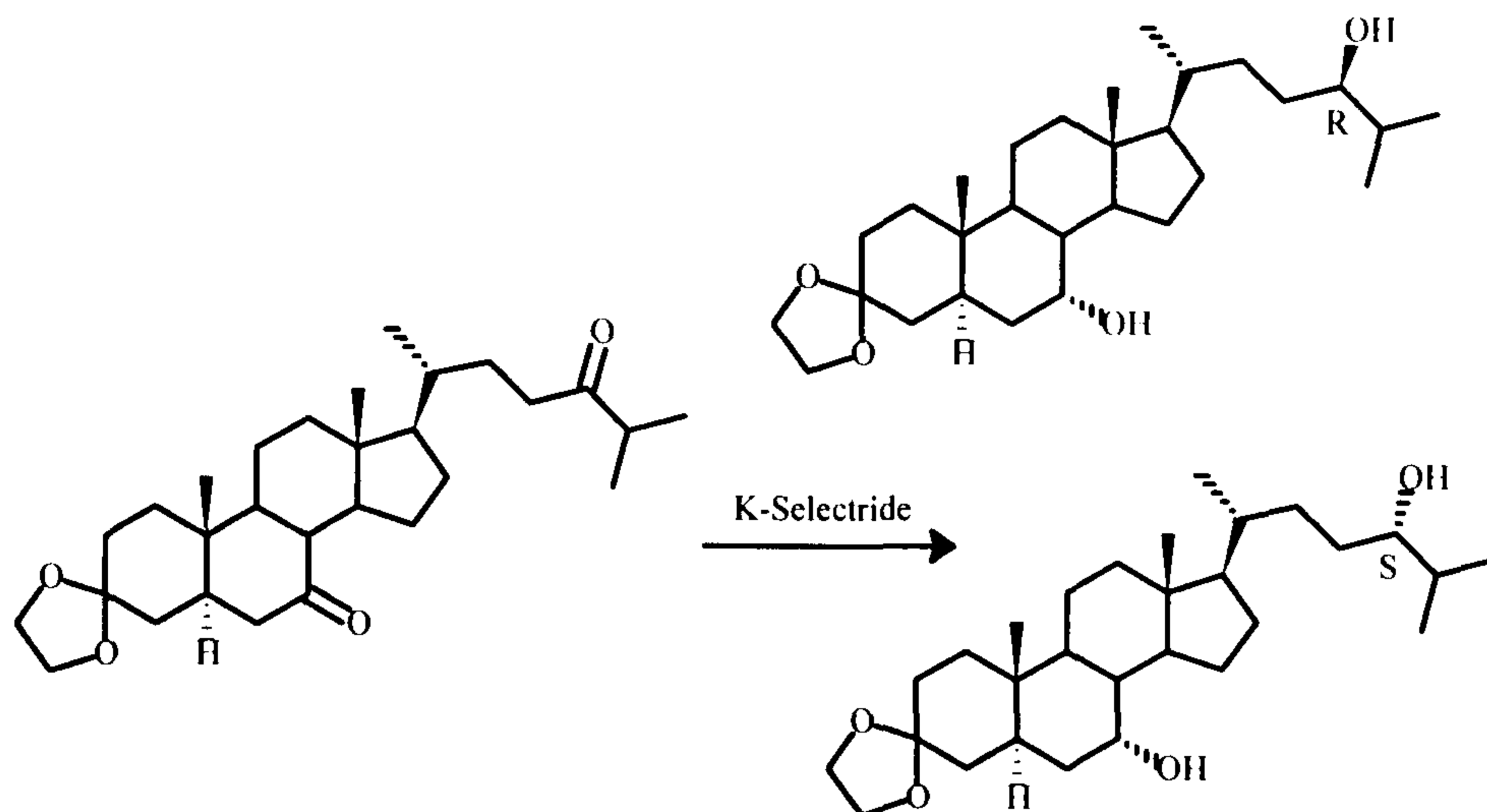
mp 164°C

IR (KBr) 2966, 2888, 1703, 1466, 1382, 1102cm⁻¹

¹H NMR δ 0.648(s, 3H, 18-CH₃), 0.906(d, J =6.9Hz, 3H, 21-CH₃), 1.086(s, 3H, 19-CH₃), 1.086(d, J =6.9Hz, 6H, 26,27-CH₃), 3.92(m, 4H, -OCH₂CH₂O-)

MS(relative intensity, %) m/z 458 (M⁺, 7), 373(6), 139(5), 99(100)

7. 3-에틸렌키탈-7 α ,24R(S)-디히드록시-5 α -콜레스탄(10) 합성



아르곤 기류하에서 3-에틸렌키탈-5 α -콜레스탄-7,24-디온(480mg, 1.05mmol)를 건조된 테트라히드로퓨란(20 mL)에 녹이고 -60°C에서 1M K-셀렉트라이드 용액(5.3 mL, 5.0 eq)을 천천히 적하 교반하고 3시간 후 -33°C로 온도를 올려서 20시간 교반하였다. 반응이 완결된 것을 확인한 후 반응혼합물에 30% 과산화수소, 포화 중탄산나트륨 용액을 넣고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 포화 소금물로 세척한 다음, 무수 망초로 건조하고 감압하에서 용매를 제거하였다. 얻은 혼합물을 일차적으로 실리카겔 칼럼으로 분리 정제 후 3-에틸렌키탈-7 α ,24R(S)-디히드록시-5 α -콜레스탄의 1:1 에피머 305 mg(0.66 mmol, 63%)을 얻었다. 크로마토트론으로 혼합물을 분리하여 24R 에피머 78 mg과 24S 에피머 103 mg을 얻어 기기 분석 하였다.

수율: 305mg, 63%

3-에틸렌키탈-7 α ,24S-디히드록시-5 α -콜레스탄

mp 196-197°C

IR (KBr) 3401, 2941, 2867, 1470, 1380, 1108, 1034cm⁻¹

¹H NMR δ 0.661(s, 3H, 18-CH₃), 0.812(s, 3H, 19-CH₃), 1.897(d, $J=6.9$ Hz, 3H, 21-CH₃), 0.928(d, $J=6.9$ Hz, 6H, 26-27CH₃), 3.31(m, 1H, 24-H), 3.82(m, 1H, 7 β -H), 3.94(m, 4H, -OCH₂CH₂O-)

MS(relative intensity, %) m/z 462 (M⁺, 4), 444(M-H₂O, 2), 400(M-HOCH₂H₂OH, 2), 141(51), 99(100)

3-에틸렌키탈-7 α ,24R-디히드록시-5 α -콜레스탄

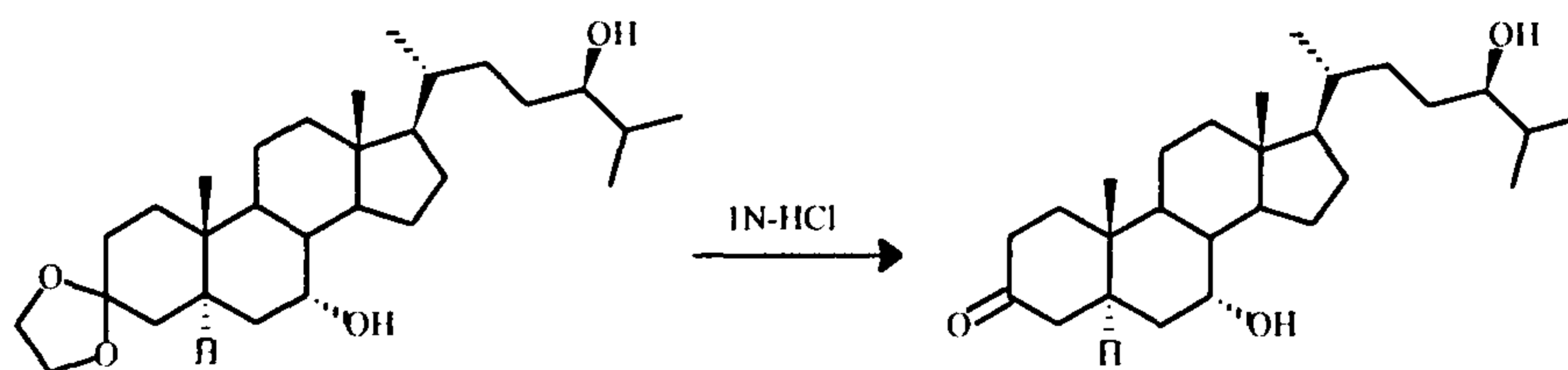
mp 167-168°C

IR (KBr) 3376, 2939, 2867, 1467, 1375, 1108, 1037cm⁻¹

¹H NMR δ 0.662(s, 3H, 18-CH₃), 0.809(s, 3H, 19-CH₃), 0.912(d, $J=6.9$ Hz, 3H, 21-CH₃), 0.912(d, $J=6.9$ Hz, 6H, 26,27-CH₃), 3.32(m, 1H, 24-H), 3.83(m, 1H, 7 β -H), 3.93(m, 4H, -OCH₂CH₂O-)

MS(relative intensity, %) m/z 462(M⁺, 4), 14(51), 99(100)

8. 7 α ,24R-디히록시-5 α -콜레스트-3-온(10) 합성



3-에틸렌키탈-7 α ,24R-디히드록시-5 α -콜레스탄(70 mg, 0.15 mmol)을 상온, 아르곤 기류하에서 테트라히드로퓨란(10 mL)에 녹이고, 1N 염산(1.0 mL)를 넣고 5시간 교반하여 반응이 완결된 것을 확인한 후 반응혼합물에 포화 중탄산나트륨 용액을 넣고 에틸 아세테이트로 추출하였다. 유기층을 포화 소금물로 세척한 다음, 무수 망초로 건조하고 감압하에서 용매를 제거하였다. 얻은 혼합물을 실리카겔 칼럼으로 분리 정제하여 7 α ,24R-디히드록시-5 α -콜레스탄-3-온을 얻었다.

수율: 72 mg, 96%

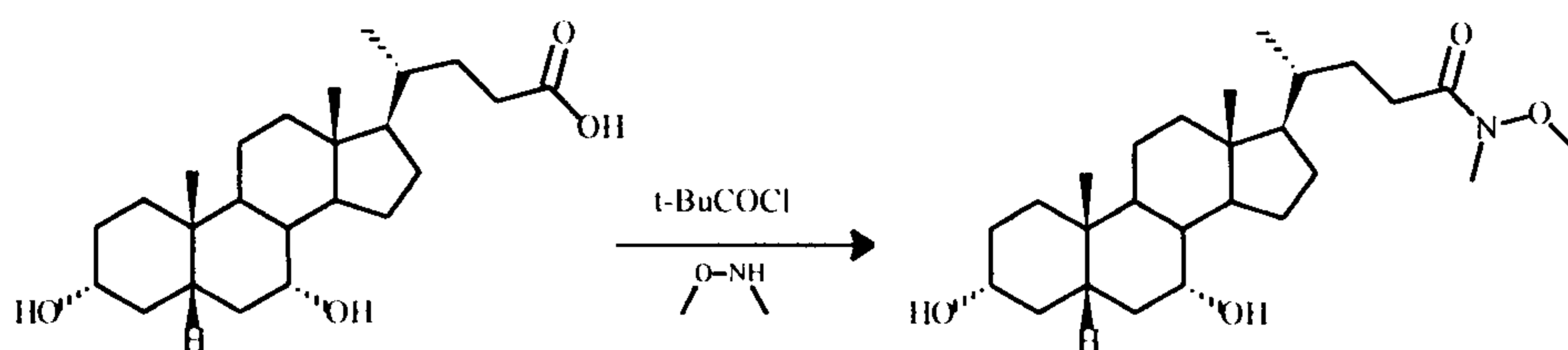
mp 194-148°C

IR (KBr) 3495, 2942, 2868, 1705, 1468, 1377, 1033, 734cm⁻¹

¹H NMR δ 0.692(s, 3H, 18-CH₃), 0.893(d, 3H, *J*=6.0Hz, 3H, 21-CH₃), 0.932(d, *J*=6.0Hz, 6H, 26-27CH₃), 1.003(s, 3H, 19-CH₃), 3.31(m, 1H, 24-H), 3.86(m, 1H, 7 β -H)

MS(relative intensity, %) *m/z* 401 (M-OH, 5), 400(M-H₂O, 19), 382(M-2H₂O, 22), 367(M-2H₂O-CH₃, 21), 358(M-C₃H₇-OH, 3), 357(M-c₃H₇-H₂O, 14), 269(M-SC-2CH₃, 45), 121(37), 109(45), 95(62), 55(100)

9. Weinreb 아마이드의 합성



키노디옥시콜산 50그램과 메틸렌클로라이드 500밀리리터를 1리터 반응기에 넣고, 4-메틸모포린 42밀리리터를 상온에서 첨가하여 콜산을 용해시켰다. 반응액을 -15°C 로 냉각시킨 후 이소부틸 클로로 포매이트 22.7밀리리터를 첨가한 후 1시간 30분간 교반하고, O,N-디메틸 히드록실아민 11.68그램을 넣고 0°C 에서 3시간 교반하여 반응을 완결시켰다. 반응액을 물과 포화소금물로 수세한 후 마그네시움 설파이트로 건조하였고, 여과한 후 감압농축하여 정제되지 않은 화합물 66그램을 얻었다. 칼럼크로마토 그래피(EA:MC=1:1)를 하여 순수한 Weineb 아미드를 얻었다.

수율: 52.8g

TLC solvent : EA SM Rf=0.55, Pdt Rf=0.50

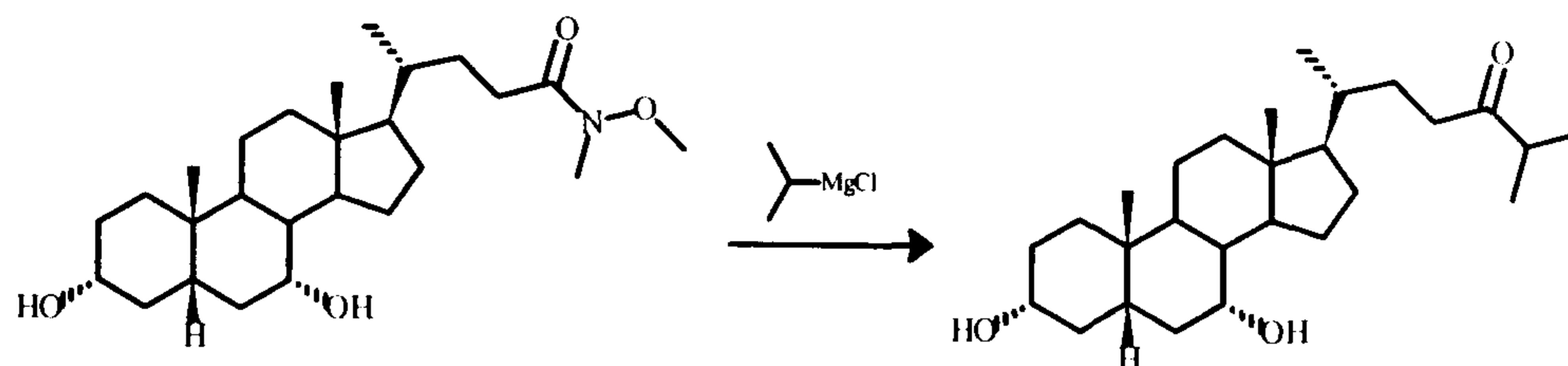
$^1\text{H-NMR}$: 0.65(s, 3H), 0.88(s, 3H), 0.93(d, 3H, J=7.0Hz), 1.0-2.5(m, 28H), 3.15(s, 3H), 3.44(m, 1H), 3.67(s, 3H), 3.82(s, 1H)

$^{13}\text{C-NMR}$: 11.6, 18.3, 20.4, 22.6, 23.4, 28.0, 30.4, 30.5, 32.6, 34.5, 34.8, 35.2, 35.3, 39.2, 39.5, 41.3, 42.4, 46.2, 50.2, 55.7, 62.0, 65.6, 68.0, 71.5, 95.9, 175.0

FT-IR 3413, 2917, 1653, 1460, 1378, 1074, 756

Mass Spec. :435.40 399(2.72%), 384(10.04%), 357(14.62%), 213(13.76%), 103(100%)

10. 23-케토콜레스탄(15) 합성



250ml 반응기에 Weinreb 아마이드 10.35g을 THF 250ml에 용해시킨 후 상온에서 이소프로필 마그네시움 클로라이드(2M) 63ml를 일시에 첨가하고 20~25 °C에서 6시간 반응시켜 반응을 완결하였다. 반응 완결 후 포화 암모니움 클로라이드 용액 15ml로 quench하고, THF 용액을 감압하에서 제거한 후 ether 200ml를 첨가하여 용해시켰다. 유기층을 물과 포화 소금물로 수세한 후, 무수 MgSO₄로 건조 후 여과하였다. 여액을 감압농축한 후 칼럼하여 순수한 23-케토콜레스탄을 얻었다.

수율: 6.57g, 66%

TLC solvent : EA Only SM R_f=0.5, Pdt R_f=0.8

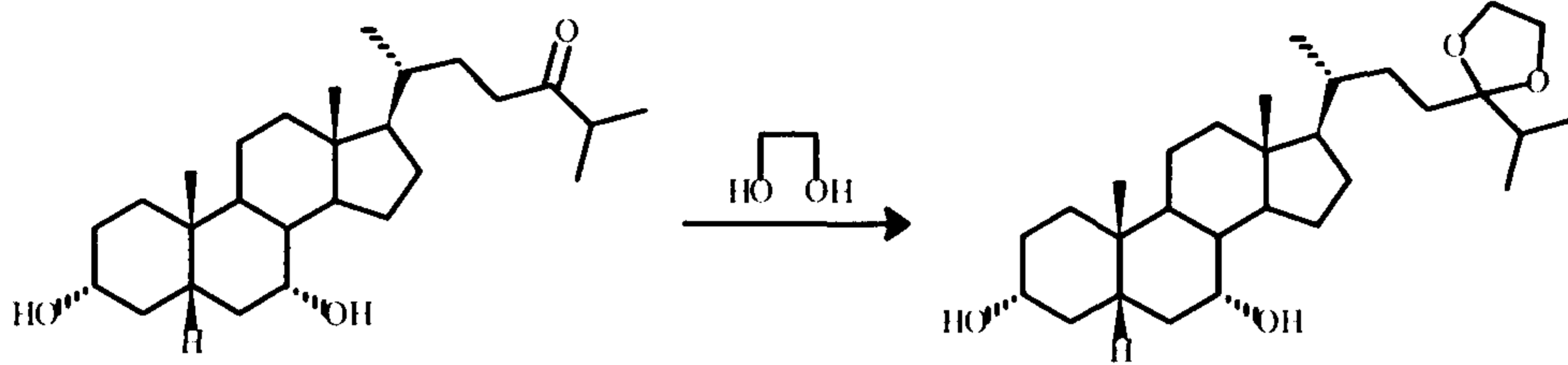
¹H-NMR : 0.64(s, 3H), 0.89(s, 3H), 0.90(d, 3H, J=5.3Hz), 1.08(d, 3H, J=6.9Hz), 3.45(m, 1H), 3.84(s, 1H)

¹³C-NMR : 11.6, 18.2, 18.3, 18.4, 22.7, 29.6, 32.7, 34.9, 35.2, 36.9, 39.3, 39.6, 40.7, 41.4, 42.5, 50.3, 55.8, 65.2, 68.2, 71.7, 114.0, 215.4

FT-IR: 3374, 2919, 1706, 1436, 1378, 1074, 752

Mass Spec. : 418.35 400(11.1%), 382(52.3%), 273(100%)

11. 23-에틸렌키탈 콜레스탄 합성



키토화합물 21.05g을 1리터 반응기에 넣고 벤젠 500ml를 넣어 용해시킨 후 에틸렌글리콜 28.06ml와 촉매량의 TsOH를 첨가한 후 8시간 환류하여 반응을 완결시켰다. 반응이 종결된 후 ether 1200ml를 넣고 포화 NaHCO₃ 용액 100ml로 수세하고, 물과 포화 소금물로 수세한 후 무수 MgSO₄로 건조 후 여과하였다. 여액을 감압농축하여 정제되지 않은 키탈화합물을 칼럼하여 순수한 23-에틸렌키탈 콜레스탄을 얻었다.

수율: 20.0g, 87%

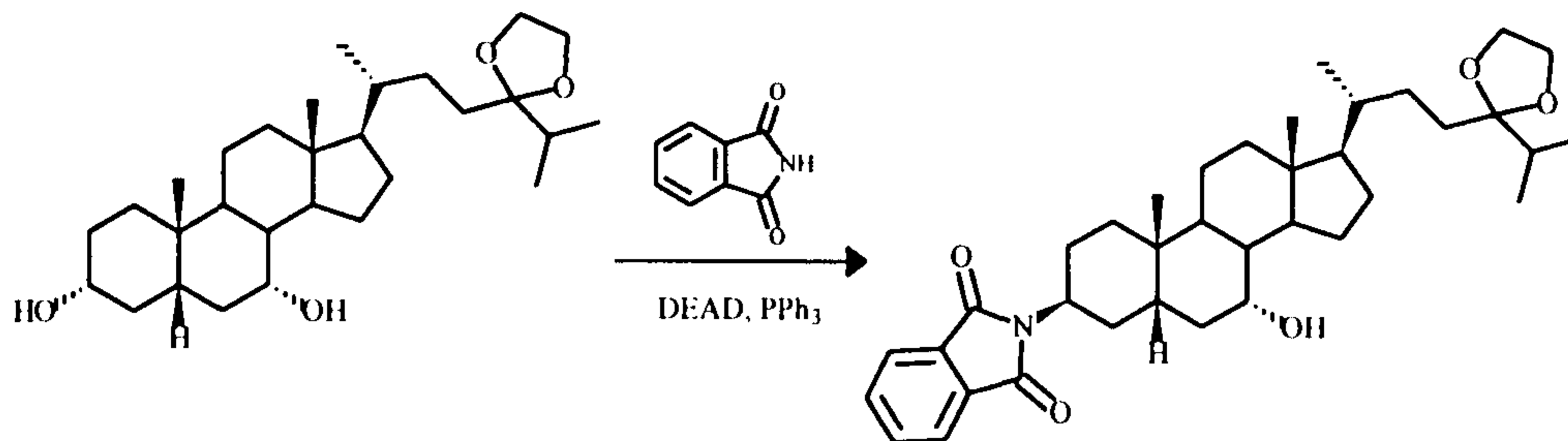
TLC solvent : EA Only SM Rf=0.75, Pdt Rf=0.75

¹H-NMR : .058(s, 3H), 0.83(s, 3H), 0.85(d, 3H, J=6.5Hz), 2.13(q,1H, J=11.1Hz), 3.38(m, 1H), 3.78(s, 1H), 3.86(s, 4H)

FT-IR: 3372, 2919, 1464, 1074, 730

Mass Spec. : 462.30 419(33.1%), 115(100%)

12. 3베타-프탈이미디노-23-에틸렌키탈 콜레스탄(16) 합성



1리터 반응기에 키탈화합물 25.0g, PPh₃ 18.4g, Phthalimide 12.0g을 THF 500ml에 용해시킨후 40°C까지 가열하여 유지시킨후 DEAD 32ml를 일시에 첨가하여 반응 시켰다. 10분후에 반응이 완결된 후 물 50ml을 넣고 반응액을 감압농축하여 THF 400ml를 제거하고 ether 1200ml를 첨가한 후 물과 포화 소금물로 수세하였다. 유기층을 무수 MgSO₄로 건조후 여과하고, 여액은 감압농축하여 정제되지 않은 3베타-프탈이미디노-23-에틸렌키탈 콜레스탄을 얻었다.

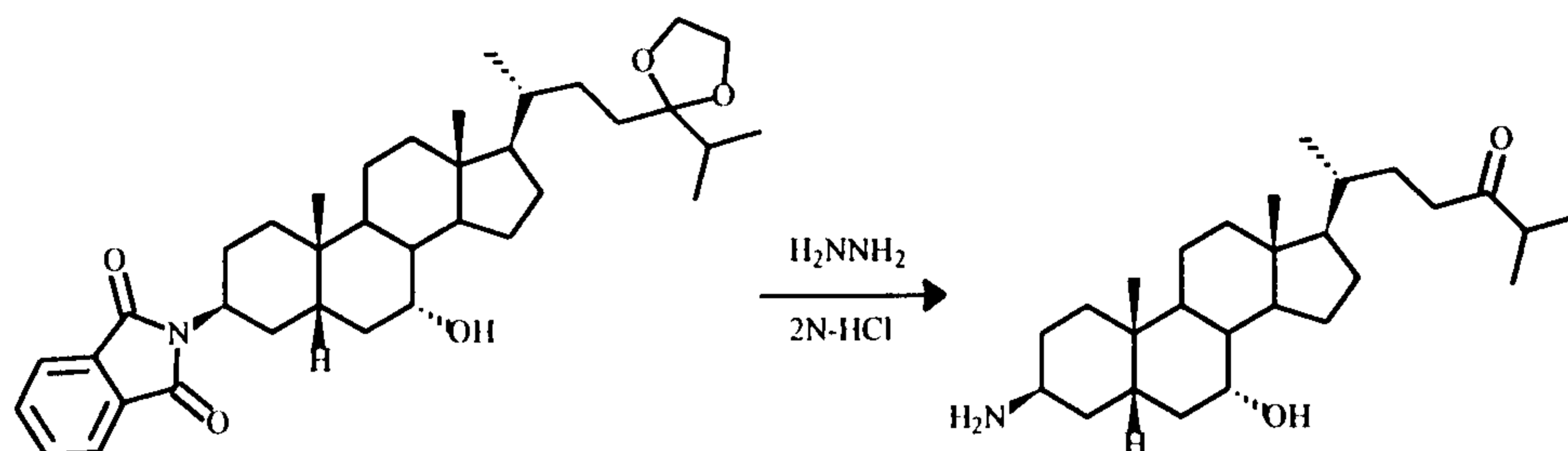
수율: 43g(정제되지 않음)

TLC solvent : Hex:Ether=1:3 SM Rf=0.25, Pdt Rf=0.60

¹H-NMR : 0.67(s, 3H), 0.92(d, 9H), 1.02(s, 3H), 3.86(s, 1H), 3.92(s, 4H), 7.79(m, 4H)

Mass Spec. : 591.30 548(20.0%), 148(13.9%), 115(100%)

13. 3베타-아미노-23-케토콜레스탄 합성



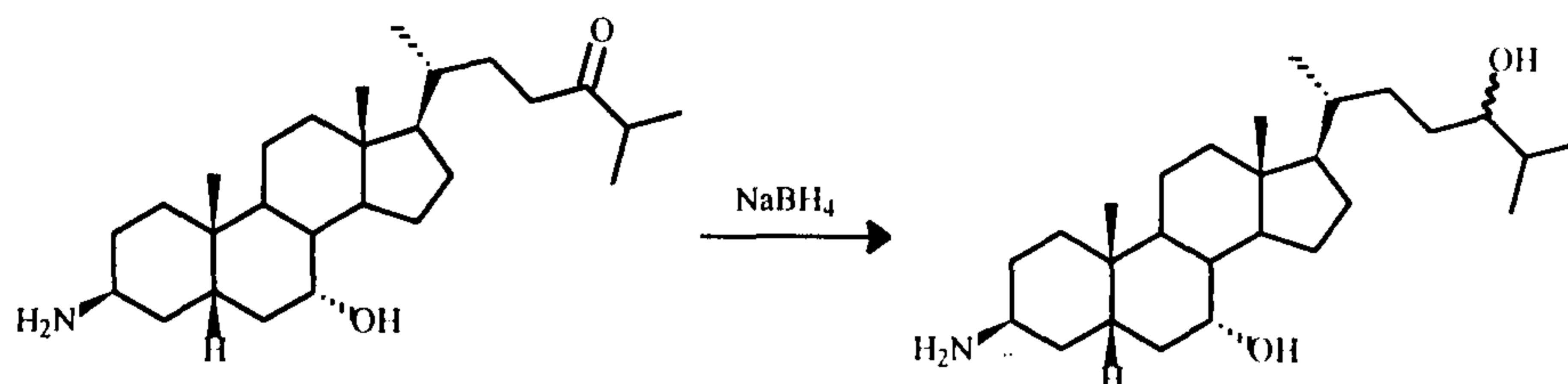
정제되지 않은 아마이드 화합물 32.7g을 메탄올 280ml에 용해시킨후 80% Hydrazine용액 12ml를 첨가하고 3시간 환류하여 반응을 완결시켰다. 반응이 완결된 후 반응물을 40°C까지 냉각시킨후 2N-HCl 용액 12ml를 첨가하고 2시간 교반하였다. 반응액을 -5 °C로 냉각하여 생성된 결정을 여과하였다. 얻어진 여액을 포화 NaHCO₃ 용액으로 중화시킨후 메탄올을 감압하에서 거의 제거하고 ether 150ml에 용해시킨후 물과 포화 소금물로 수세하였다. 유기층을 무수 MgSO₄로 건조하고 여과한 후, 여액을 감압농축하여 얻어진 아민화합물 칼럼크로마토 그래피하여 순수한 3베타-아미노-23-케토콜레스탄을 얻었다.

수율: 10.95g, 64%

TLC solvent : Hex:Ether=1:3 SM Rf=0.60, Pdt Rf=0

¹H-NMR : 0.61(s, 3H), 0.88(s, 3H), 0.89(s, 3H), 1.04(d, 6H, J=6.9Hz), 3.39(s, 1H), 3.80(s, 1H),

14. 3베타-아미노 콜레스탄(17) 합성



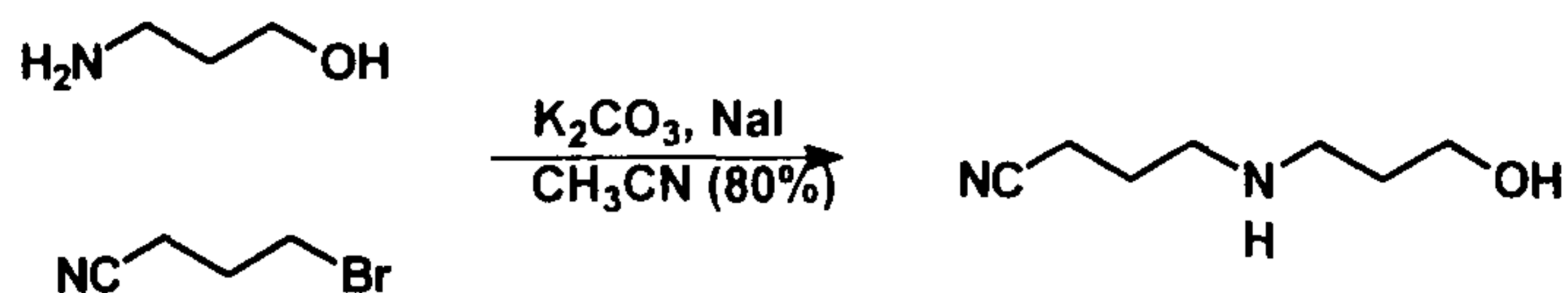
키토 화합물 6.6 그램과 메탄올 100밀리리터를 250밀리리터 반응기에 넣고, 소티움 보로하드라이드로 0.68그램을 상온에서 첨가하여 5시간 교반하여 환원하였다. 반응이 완결된 후에 10% HCl/MeOH 용액 20밀리리터를 첨가하여 5시간 교반하여 보호된 Boc 그룹을 제거하였다. 반응이 완결된 후에 K₂CO₃ 3그램을 첨가하고 3시간 교반하여 중화하였다. 결정은 여과하여 제거하고 여액은 감압증류하여 정제되지 않은 아미노 알콜 화합물을 얻었다. 컬럼하여 순수한 3베타-아미노 콜레스탄을 얻었다.

수율: 3.8g, 72%

TLC solvent : Hex:Ether=1:3 SM R_f=0.8, Pdt R_f=0.6

¹H-NMR : 0.66(s, 3H), 0.94(m, 12H), 2.47(d,t, 1H), 3.19(s, 1H), 3.30(s, 1H), 3.84(s, 1H),

15. 3-cyanopropyl-3'-hydroxypropylamine 합성



3-Aminopropanal 3g을 아세토니트릴 150 mL에 녹이고, K₂CO₃ 6g과 NaI 600mg을 넣고 60°C에서 환류 교반한다. 환류 교반되고 있는 반응액에 syringe pump를 사용하여 4-bromobutyronitrile 4.5g을 천천히 7시간동안 적하한다. 적하가 끝나고 20시간 반응시키면서 TLC로 반응 완결을 확인한다. 반응이 종결되면 oil bath를 제거하여 서서히 냉각시킨 다음 glass filter로 K₂CO₃를 제거하고 감압 증류하여 아세토니트릴 제거한다. 이렇게 얻어진 혼합물을 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 3-니트릴로프로필-3'-히드록시프로필아민을 얻었다.

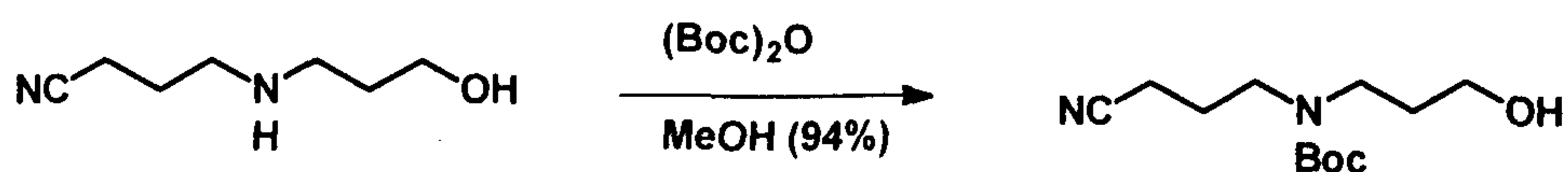
수율: 4.1g, 80%

R_f = 0.7 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 16 : 3: 1)

¹HNMR(200 Hz) : 3.70(t, J=5.9 Hz, 2H), 2.86-2.72(6H), 2.43(t, J=6.8 Hz, 2H), 1.79(pentet, J=6.8 Hz, 2H), 1.67(pentet, J=6.8 Hz, 2H).

MS : 143 (M+1, 10), 142(M+, 5).

16. 3-cyanopropyl-3'-hydroxypropyl-N-benzyloxycarbonylamine(19)



아민화합물 4.1g을 메탄올 20mL에 녹이고 Boc₂O을 메탄올 5mL에 녹여 적하시킨다. bubbler에서 기포 발생이 사라지면 TLC로 반응 완결을 확인한 후 감압하에서 메탄올을 제거하고, 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물(19)을 얻었다.

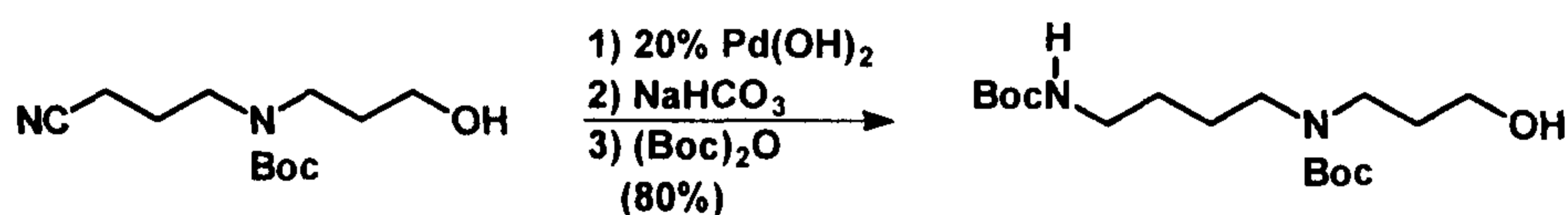
수율: 7.5g, 94%

R_f = 0.5 (100% Et₂O)

¹HNMR(200 Hz) : 3.55(m, 3H), 3.31-3.24(m, 4H), 2.35(t, J=6.8 Hz), 1.88(pentet, J=6.8 Hz, 2H), 1.68(m, 2H), 1.45(s, 9H).

MS : 243(M⁺, 1).

17. Reduction and Protection of Cyano group



니트릴 화합물 550mg을 아세트산 10mL에 녹이고 20% Pd(OH)₂를 촉매량 넣고 1.6기압하에서 수소화반응을 18시간한다. TLC로 반응 종결 확인 후 감압 하에서 아세트산을 제거하고 반응물을 에틸 아세테이트와 디에틸에테르를 넣고, NaHCO₃ 포화 수용액으로 염기화를 시킨 다음 추출한다. 유기층에는 반응 부산물이 물층에는 생성물이 존재하게 된다. 감압하에서 물을 제거한 다음 에틸 아세테이트와 메탄올로 녹인 다음 Boc₂O을 메탄올 10mL에 녹여서 적하하여 얻어진 화합물은 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물 아미노 알콜을 얻었다.

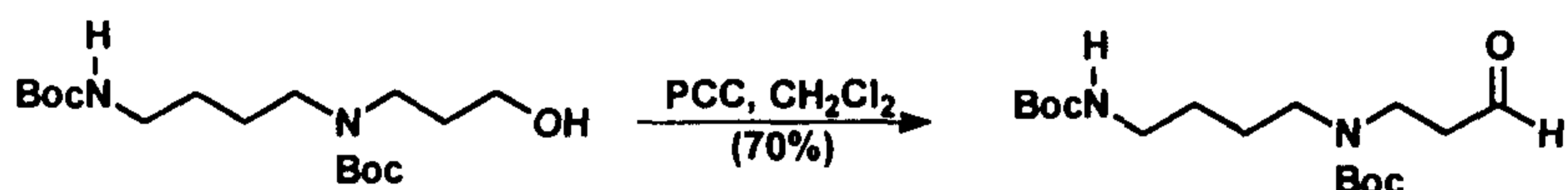
수율: 500mg, 80%

Rf = 0.5 (100% Et₂O)

¹HNMR(200 Hz) : 4.75(bs, 1H), 3.61(m, 2H), 3.41(m, 2H), 3.18(m, 4H), 1.73(m, 2H), 1.49(m, 4H), 1.48(s, 9H).

MS : 346(M⁺, 5).

18. 아미노 알코올의 산화반응, 디아미노 알데히드 화합물(21)



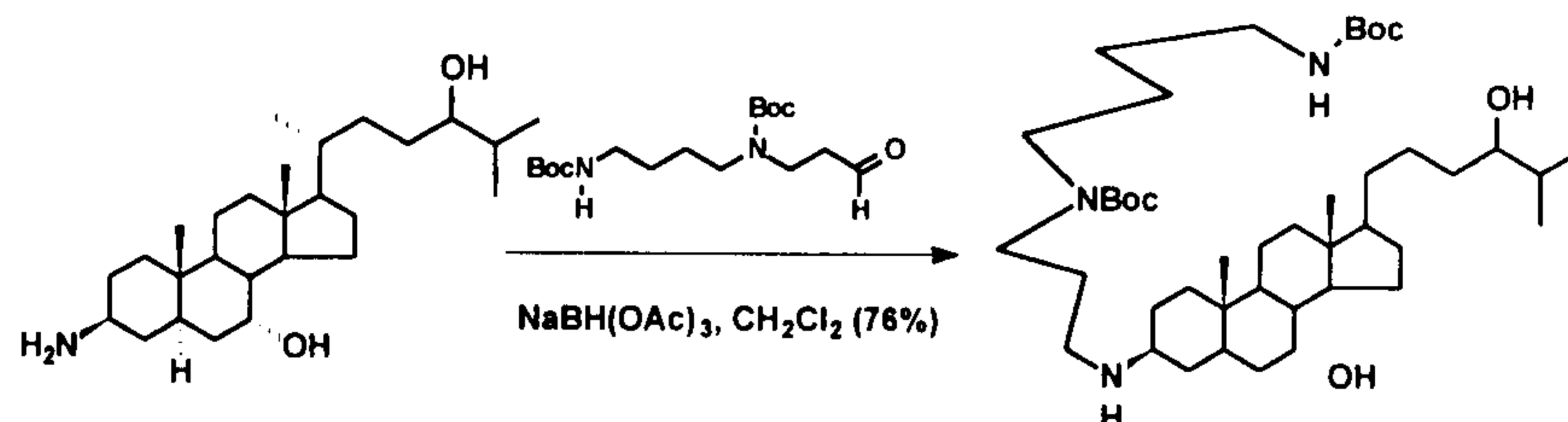
디클로로메탄 25mL에 PCC 2.1g을 넣고 30분간 교반시키고 알코올 1g을 넣고 교반하면 반응이 진행됨에 따라서 진 노랑색의 반응액이 진 갈색으로 변화된다. 2시간후 TLC로 반응 완결을 확인후 반응물에 디에틸에테르를 넣고 30분간 교반한 다음 여과기에 실리카겔과 celite을 넣고 무기물을 제거하고 반응액에 CuSO₄을 넣어 피리딘을 제거하고 에틸 아세테이트로 추출한다. 감압 하에서 농축된 화합물을 실리카 겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: 700mg, 70%

Rf = 0.6 (100% Et₂O)

¹HNMR(200 Hz) : 4.60(bs, 1H), 3.47(t, J=6.2 Hz, 2H), 3.17-3.08(m, 4H), 2.67(t, J=6.5Hz, 2H), 1.76(m, 4H), 1.41(s, 9H).

19. N,N-diBoc-24-desulfate-squalamine 합성



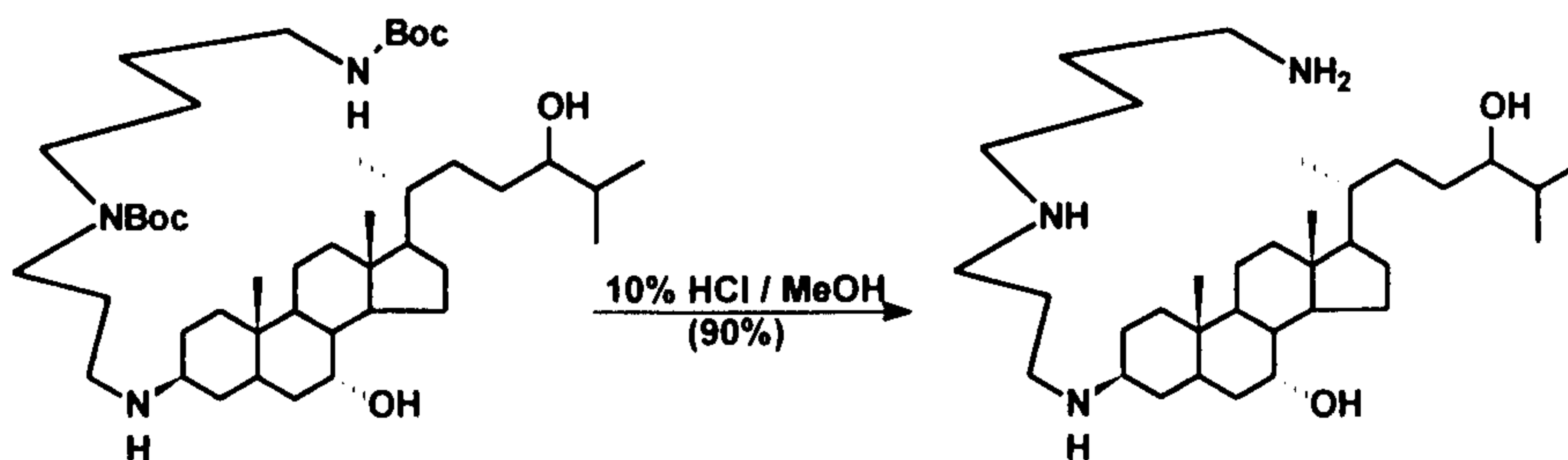
3β-아미노 스테로이드 400mg과 알데하이드 430mg을 건조된 디클로로메탄 25mL에 녹인후 20분가량 교반한 다음 0°C에서 NaBH(OAc)₃ 4.0mL을 넣고 1시간 교반한다. TLC로 반응 완결을 확인한 후 반응용액에 포화NaHCO₃ 수용액을 넣고 디에틸 에테르와 에틸아세테이트로 추출한다. MgSO₄로 건조한다. 이렇게 얻어진 혼합물을 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: 580mg, 76%

R_f = 0.8 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 16 : 3 : 1)

¹H-NMR (200MHz) : 4.81(bs, 1H), 3.78(m, 1H), 3.38-3.05(m, 8H), 1.44(s, 9H), 1.43(s, 9H), 0.93(m, 9H), 0.78(s, 3H), 0.66(s, 3H).

20. Desulfate squalamine 합성



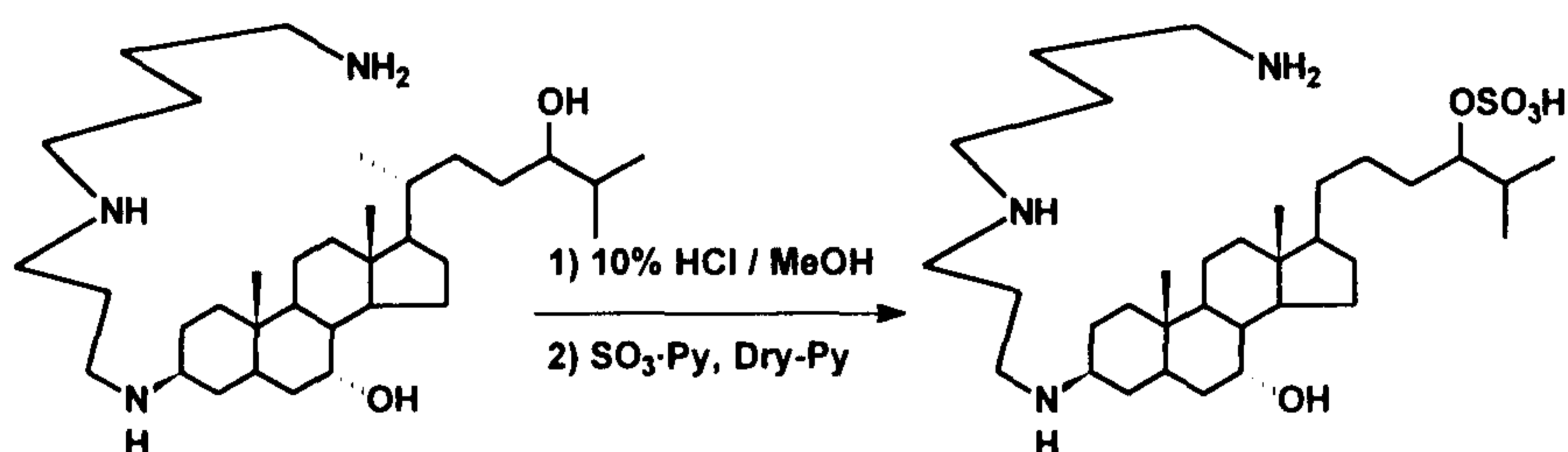
출발물질 580mg를 10% HCl/MeOH 10mL에 녹인후 상온에서 2시간 교반시킨다. 반응액에 존재하는 물을 제거한 다음 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: 350mg, 90%

Rf = 0.5 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 6 : 3 : 1)

¹H-NMR (200MHz) : 3.78(m, 1H), 3.31(m, 1H), 3.09-2.68(m, 10H), 0.94(s, 12H), 0.71(s, 3H).

21. 스쿠알아민(1)의 합성



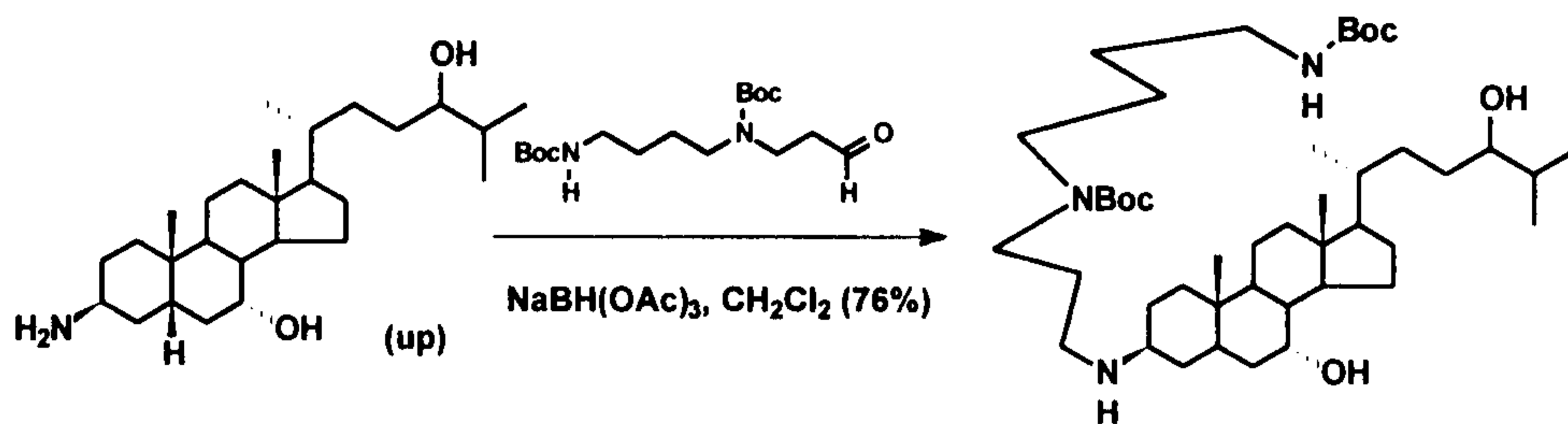
24-알코올 34mg을 2mL의 conc-HCl와 20mL MeOH에 녹인 다음 15분간 교반한다. 이 반응용액을 감압하에서 물과 메탄올을 제거하여 건조한 후 SO₃·Py complex 40mg을 넣고 아르곤 가스로 반응용기에 가득 채우고 건조된 피리딘 2mL을 넣고 교반한다. 이 반응시 40-60°C에서 반응한다. 반응 완결을 TLC로 확인한 후 메탄올 4mL을 넣고 15분간 교반한 다음 celite로 suspension된 용액을 filtration하고, 감압하에서 반응 용매를 제거한 다음 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 스쿠알아민을 얻었다

수율: 15mg, 40%

Rf = 0.4 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 6 : 3 : 1)

¹H-NMR (200MHz) : 4.12(m, 1H), 3.78(m, 1H), 3.23(m, 2H), 3.17(m, 5H), 2.98(t, J= 6.8Hz, 2H), 0.83(s, 3H), 0.67(s, 3H).

22. N,N-diBoc-24(S)-desulfate-5 α -squalamine 합성



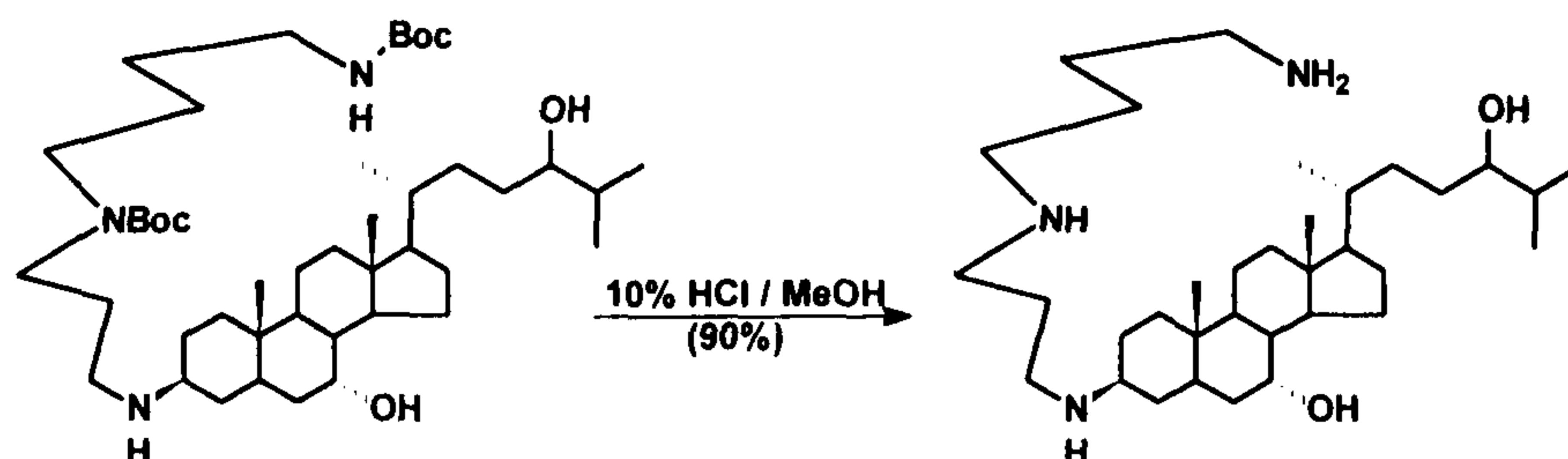
3 β -아미노 스테로이드 500mg과 알데하이드 536mg을 건조된 디클로로메탄 25mL에 녹인후 20분가량 교반한 다음 0°C에서 NaBH(OAc)₃ 3.0mL을 넣고 1시간 교반한다. TLC로 반응 완결을 확인한 후 반응 용액에 포화NaHCO₃ 수용액을 넣고 디에틸 에테르와 에틸아세테이트로 추출한다. MgSO₄로 건조한다. 이렇게 얻어진 혼합물을 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: 600mg, 76%

Rf = 0.8 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 20 : 3 : 1)

¹H-NMR (200MHz) : 4.68(bs, 1H), 3.95(m, 1H), 3.42-3.15(m, 8H), 2.89(m, 1H), 2.58(t, J=6.0Hz, 2H), 2.41(m, 1H), 1.518(s, 9H), 1.512(s, 9H), 1.003(m, 12H), 0.73(s, 3H).

23. 24(S)-desulfate-5 α -squalamine 합성

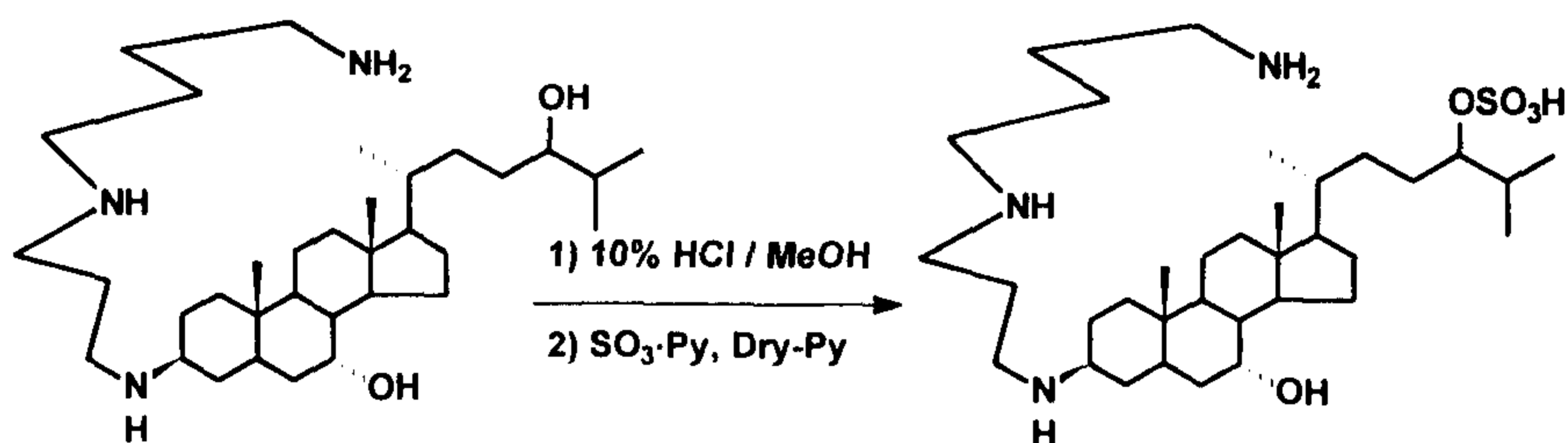


출발물질 290mg를 10% HCl/MeOH 10mL에 녹인후 상온에서 2시간 교반시킨다. 반응액에 존재하는 물을 제거한 다음 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: 150mg, 90%

Rf = 0.5 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 20 : 3 : 1)

24. 5 α -24(S)-squalamine 합성



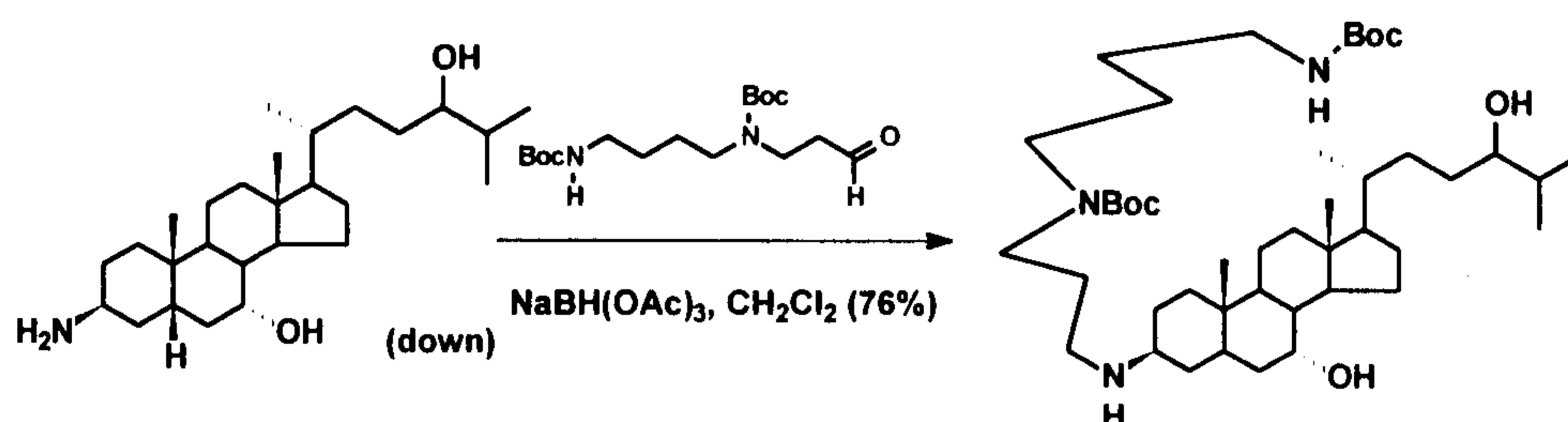
24-알코올 34mg을 2mL의 conc-HCl와 20mL MeOH에 녹인 다음 15분간 교반한다. 이 반응용액을 감압하에서 물과 메탄올을 제거하여 건조한 후 SO₃·Py complex 40mg을 넣고 아르곤 가스로 반응용기에

가득 채우고 건조된 피리딘 2mL을 넣고 교반한다. 이 반응시 40-60°C에서 반응한다. 반응 완결을 TLC로 확인한 후 메탄올 4mL을 넣고 15분간 교반한 다음 celite로 suspension된 용액을 filtration하고, 감압하에서 반응 용매를 제거한 다음 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다

Rf = 0.4 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 6 : 3 : 1)

수율: 10mg, 30%

25. N,N-diBoc-24(R)-desulfate-5 α -squalamine 합성



3 β -아미노 스테로이드 400mg과 알데하이드 450mg을 건조된 디클로로메탄 25mL에 녹인후 20분가량 교반한 다음 0°C에서 NaBH(OAc)₃ 3.0mL을 넣고 1시간 교반한다. TLC로 반응 완결을 확인한 후 반응용액에 포화NaHCO₃ 수용액을 넣고 디에틸 에테로와 에틸아세테이트로 추출한다. MgSO₄로 건조한다. 이렇게 얻어진 혼합물을 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

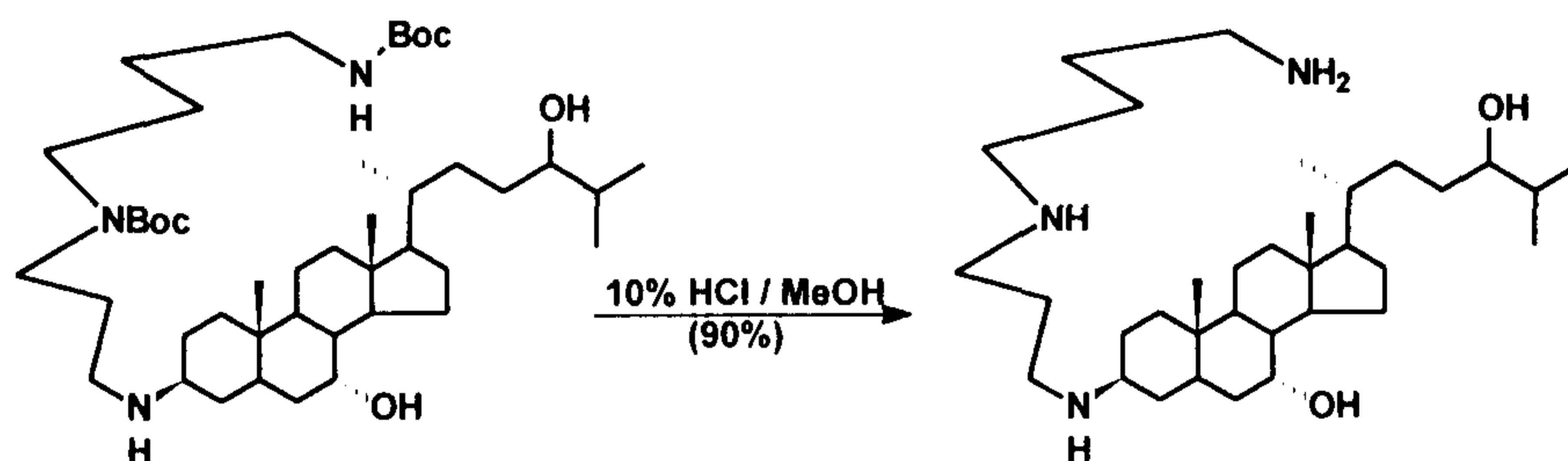
수율: 610 mg, 76%

Rf = 0.8 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 20 : 3 : 1)

¹H-NMR (200MHz) : 4.82(bs, 1H), 3.78(m, 1H), 3.38-3.05(m, 8H),

1.44(s, 9H), 1.43(s, 9H), 0.94(m, 9H), 0.77(s, 3H), 0.68(s, 3H).

26. 24(R)-desulfate-5 α -squalamine 합성



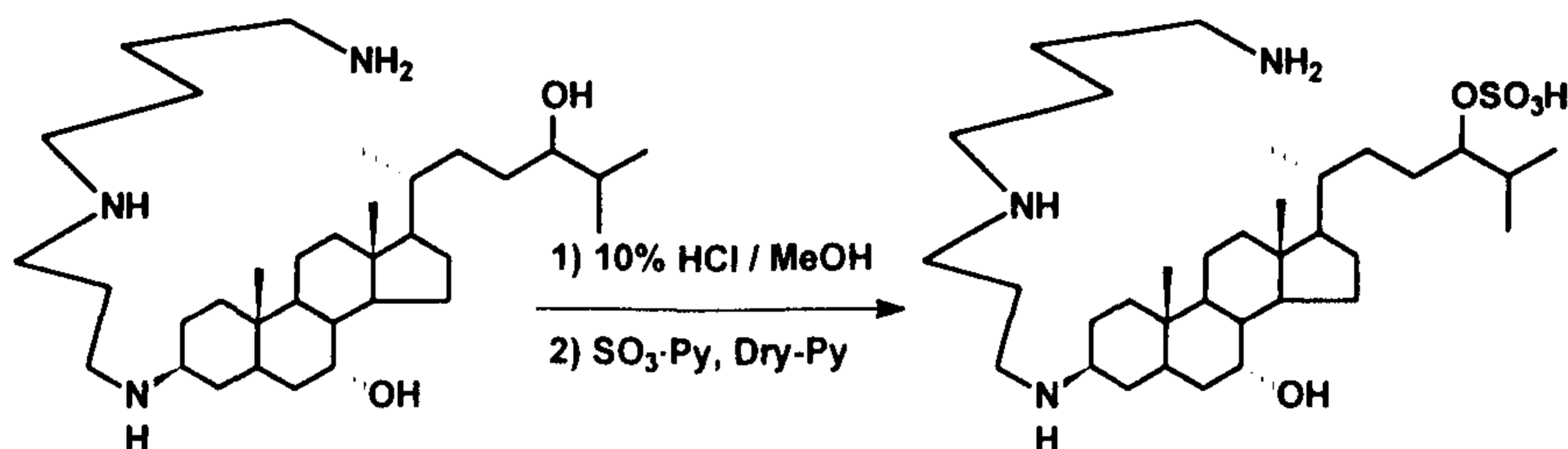
출발물질 370mg를 10% HCl/MeOH 10mL에 녹인후 상온에서 교반시킨다. 2시간 후 TLC로 반응 진행을 확인한 후 반응이 완전히 진행되지 않으면 서서히 30°C로 온도를 올려준다. 반응액에 존재하는 물을 제거한 다음 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: 250mg, 90%

Rf = 0.5 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 6 : 3 : 1)

¹H-NMR (200MHz) : 3.79(m, 1H), 3.33(m, 1H), 3.09-2.68(m, 10H), 0.92(s, 12H), 0.74(s, 3H).

27. 24(R)-5 α -squalamine 합성

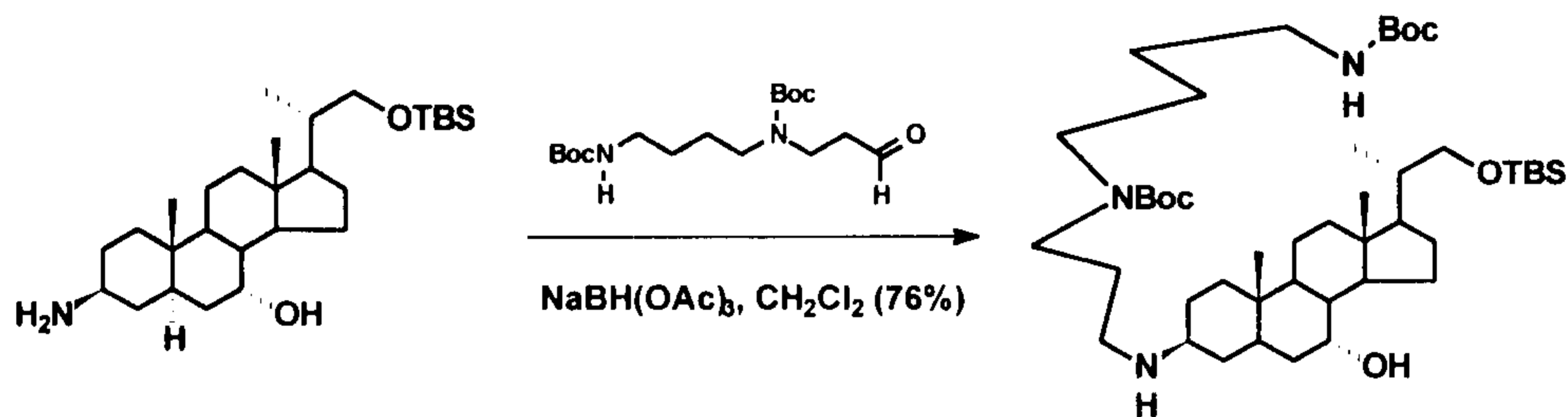


24-알코올 34mg을 2mL의 conc-HCl와 20mL MeOH에 녹인 다음 15분간 교반한다. 이 반응용액을 감압하에서 물과 메탄올을 제거하여 건조한 후 SO₃·Py complex 40mg을 넣고 아르곤 가스로 반응용기에 가득 채우고 건조된 피리딘 2mL을 넣고 교반한다. 이 반응시 40-60°C에서 반응한다. 반응 완결을 TLC로 확인한 후 메탄올 4mL을 넣고 15분간 교반한 다음 celite로 suspension된 용액을 filtration하고, 감압하에서 반응 용매를 제거한 다음 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 의 목적물을 얻었다

수율: 15mg, 40%

Rf = 0.4 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 6 : 3 : 1)

28. 3 α -diBoc-spermidinyl bisnorcholesterol 합성



3 β -아미노 스테로이드 620mg과 알데하이드 590mg을 건조된 디클로로메탄 25mL에 녹인후 20분가량 교반한 다음 0°C에서 NaBH(OAc)₃ 4.0mL을 넣고 1시간 교반한다. TLC로 반응 완결을 확인한 후 반응용액에 포화NaHCO₃ 수용액을 넣고 디에틸 에테로와 에틸아세테이트로 추출한다. MgSO₄로 건조한다. 이렇게 얻어진 혼합물을 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: 710 mg, 76%

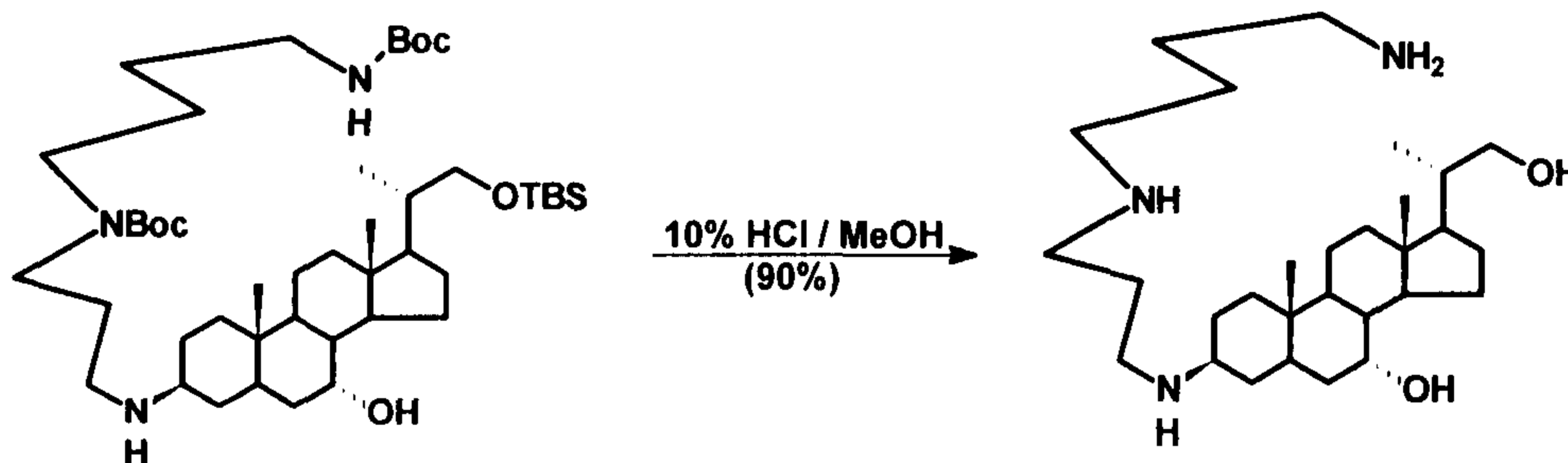
Rf (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 16 : 3 : 1) : 0.8

¹H-NMR (200MHz) : 5.84(bs, 1H), 3.81(bs, 1H), 3.78(m, 1H), 3.53(m, 1H), 3.39-3.02(m, 6H), 2.91(m, 3H), 1.44(s, 9H), 1.43(s,9H), 0.98(m, 6H), 0.89(s, 12H), 0.65(s, 3H), 0.027(s, 3H), 0.015(s, 3H).

MS : 792 (M⁺, 5)

29. 3 α -spermidinyl bisnorcholesterol 합성

출발물질 700mg를 10% HCl/MeOH 10mL에 녹인후 상온에서 2시간 교반시킨다. 반응액에 존재하는 물을 제거한 다음 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.



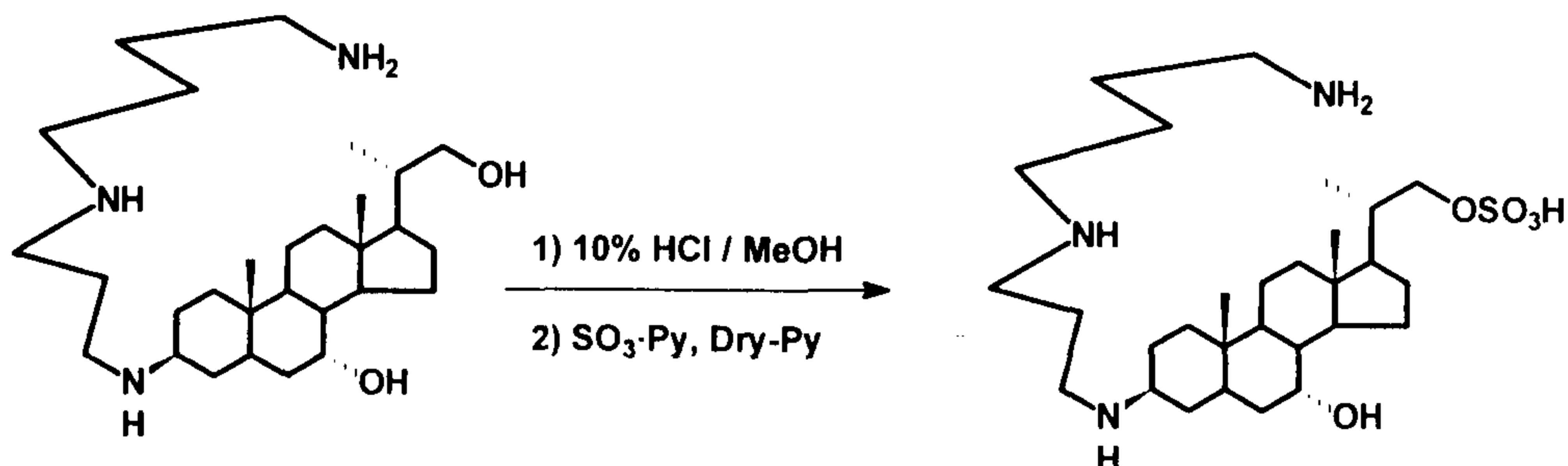
수율: 410mg, 90%

Rf (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 6 : 3 : 1) : 0.5

¹H-NMR (200MHz) : 3.78(m, 1H), 3.57(m, 1H), 3.23(m, 1H), 2.94-2.68(m, 9H), 1.39(d, J=6.8Hz, 3H), 0.84(s, 3H), 0.71(s, 3H).

MS : 477 (M⁺, 4)

30. 3 α -diBoc-spermidinyl bisnorcholesterol sulfate 합성

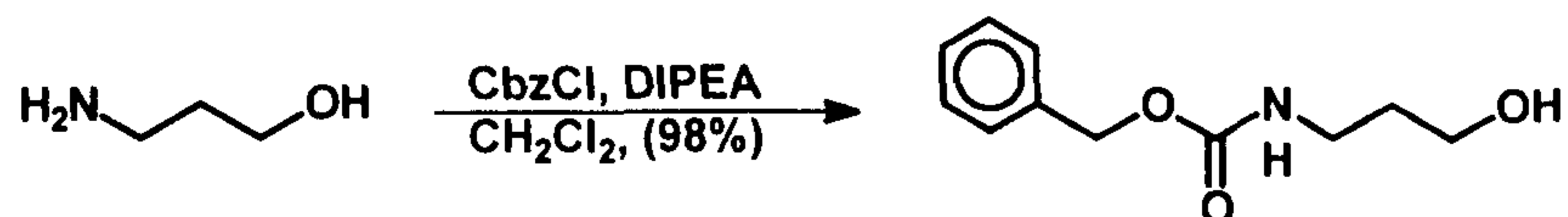


24-알코올 44mg을 3mL의 conc-HCl와 30mL MeOH에 녹인 다음 15분간 교반한다. 이 반응용액을 감압하에서 물과 메탄올을 제거하여 건조한 후 SO₃·Py complex 60mg을 넣고 아르곤 가스로 반응용기에 가득 채우고 건조된 피리딘 3mL을 넣고 교반한다. 이 반응시 40-60°C에서 반응한다. 반응 완결을 TLC로 확인한 후 메탄올 6mL을 넣고 15분간 교반한 다음 celite로 suspension된 용액을 filtration하고, 감압하에서 반응 용매를 제거한 다음 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 의 목적물을 얻었다.

수율: 7 mg, 15% (회수 출발물질 20mg)

Rf (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 6 : 3 : 1) : 0.4

31. 3-(N-benzyloxycarbonyl)aminopropanol 합성



3-amino-1-propanol 500mg를 디클로로메탄 20mL에 녹인 다음, DIPEA 1.5 mL넣고, 0°C에서 CbzCl 1.3mL를 천천히 적하시킨다. 2시간후 TLC로 반응이 완결된 것을 확인한 다음 포화 NH₄Cl 수용액을 넣고 디클로로메탄으로 추출하고 감압하에서 농축된 혼합물은 실리카 겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

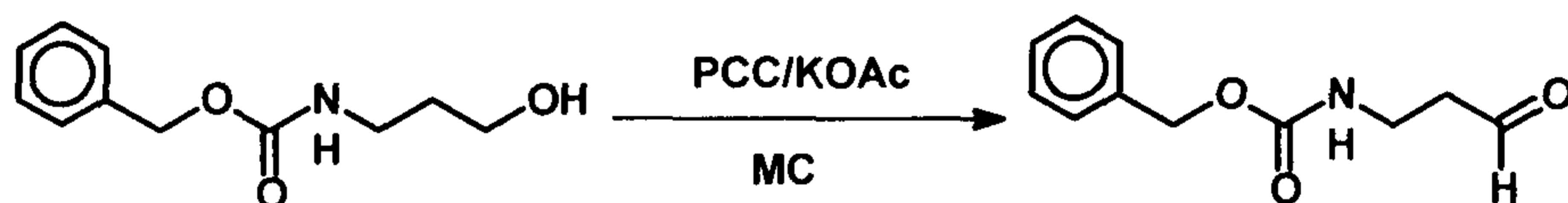
수율: 1.38g, 98%

R_f = 0.4 (100% Et₂O)

¹HNMR (200MHZ) 7.40-7.35(m, 5H), 5.14(s, 2H), 3.70(t, J=5.8Hz, 2H), 3.38(q, J=5.8 Hz, 2H), 1.73(pentet, J=5.8 Hz, 2H).

MS : 209 (M⁺, 1)

32. 3-(N-benzyloxycarbonyl)aminopropanal 합성



PCC 1.8g 과 KOAc 250mg을 건조된 디클로로메탄 100mL에 넣고 30분간 교반한다. 다음 Cbz로 보호된 3-아미노 프로판올 600mg을 넣어준다. 1시간 후부터 TLC로 반응을 확인하면서 교반한다. 반응이 끝나면 반응용액에 celite, Et₂O를 넣고 30분가량 교반한 다음 celite로 filtration한것을 CuSO₄수용액으로 피리딘을 제거한 다음 MgSO₄로 건조한다. 이렇게 얻어진 혼합물을 짧은 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

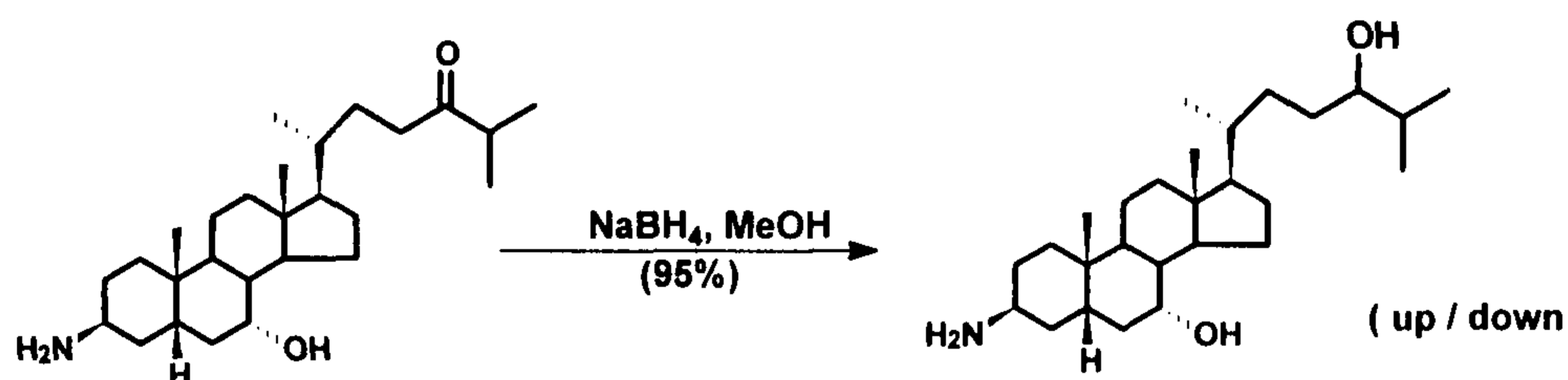
수율: 400mg, 60%

Rf = 0.5 (100% Et₂O)

¹H-NMR (200MHz) : 9.80(s, 1H), 7.35(s, 5H), 5.10(bs, 1H), 5.09(s, 2H), 3.51(q, J=6.8Hz, 2H), 2.73(t, J=6.8Hz, 2H).

MS : 208 (M+1, 1), 207 (M+, 2)

33. 3 α -아미노-5 α -콜레스탄 합성



24-케토화합물 1g을 메탄올 15mL에 녹이고 NaBH₄ 800mg을 넣고 5시간 교반한다. TLC로 반응의 완결을 확인한 다음 감압하에서 반응용매인 메탄올을 제거하고, 에틸아세테이트와 디에틸 에테르로 추출하여 얻어진 유기층은 무수 MgSO₄로 건조시켜 감압하에서 농축된 혼합물을 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: C24(S) epimer: 450 mg, C24(R) epimer: 470 mg, 95%

Rf = C24(R): 0.6, C24(S): 0.56 (CH₂Cl₂:MeOH:NH₄OH = 16 : 3 : 1)

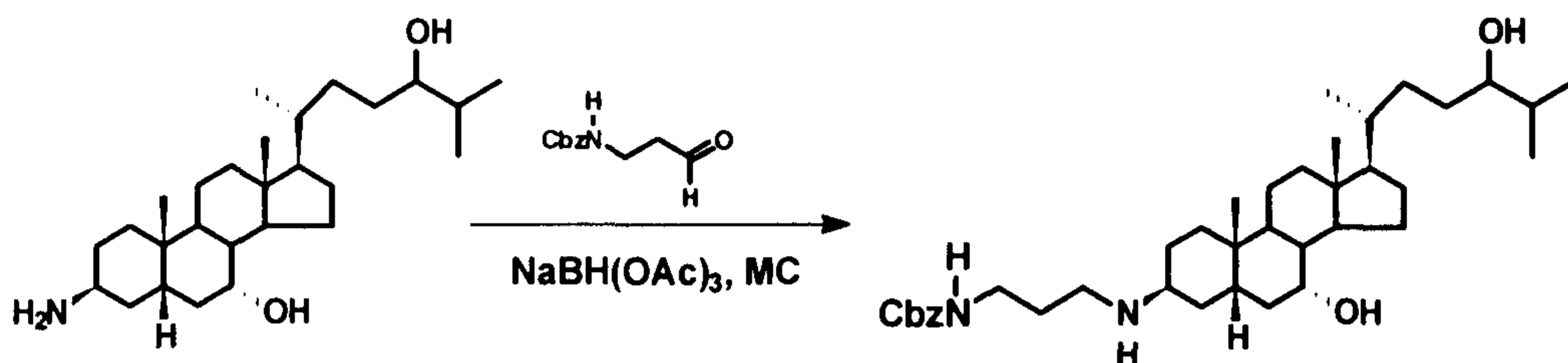
C24(S)-hydroxy cholestane

¹H-NMR (200MHz) : 3.93 (m, 1H), 3.38 (m, 2H), 3.28 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 1.02 (s, 12H), 0.73 (s, 3H).

C24(R)-hydroxy cholestane

¹H-NMR (200MHz) : 3.93 (m, 1H), 3.38 (m, 2H), 3.28 (m, 1H), 2.58 (m, 1H), 1.08 (s, 12H), 0.74 (s, 3H).

34. 3 α -[3-(N-benzyloxycarbonyl)aminopropyl]amino-5 α -cholestane (22)



3 β -아미노 스테로이드 536mg과 알데하이드 450mg을 건조된 디클로로메탄 20mL에 녹인후 20분가량 교반한 다음 0 °C에서 NaBH(OAc)₃ 3mL을 넣고 교반한다. TLC로 반응 완결을 확인한 후 반응용액에 포화NaHCO₃ 수용액을 넣고 디에틸 에테르와 에틸아세테이트로 추출한다. MgSO₄로 건조한다. 이렇게 얻어진 혼합물을 실리카겔 컬럼으로 분리 정제하여 목적물을 얻었다.

수율: 700mg, 70%

R_f = 0.8 (CH₂Cl₂ : MeOH : NH₄OH = 18 : 3 : 1)

¹H-NMR (200MHz) : 7.36(s, 5H), 6.13(bs, 1H), 5.11(s, 2H), 3.86(m, 1H), 3.33(m, 4H), 2.95(m, 1H), 2.76(t, J=6.8Hz, 2H), 2.43(m, 1H), 0.90(s, 3H), 0.68(s, 3H).

3) 연구 결과

본 연구 결과는 1차년도에 확립된 스쿠알아민 합성 공정중 중요한 중간체인 3-키토 콜레스탄(10)의 큰 규모의 반응 공정을 확립하였다. 그러나 3-키토 콜레스탄(10)의 합성 공정중 시스 고리구조를 트랜스 고리구조로 변환시키는 공정은 여전히 많은 문제점을 갖고 있다. 이러한 문제점과 키노데옥시콜산(7)이 출발물질로서 비싼 단점을 보완하기 위해 새로운 합성법을 수행하였다. 출발물질로서 값싼 천연 스테로이드중 3-키노 비스놀콜레롤(11)로 스쿠알아민(1)의 전합성에 대해 연구하여 좋은 결과를 얻어 특허를 출원하였다. 3-키토 비스놀콜레롤(11)에서부터 스쿠알아민의 전합성 공정의 특징은 값싼 출발물질을 사용하고, 13단계 반응 공정으로 스쿠알아민을 합성한 것이다. 그리고 대부분의 공정은 좋은 수율이었다. 다양한 스쿠알아민 유도체를 합성하기 위해서 키노데옥시콜산(7)으로부터 AB 시스 고리구조를 갖는 3-베타-아미노콜레스탄(17)의 합성법을 개발하여 새로운 스쿠알아민 유도체들을 합성 할 수 있게 되었다. 3-베타-아미노콜레스탄(12)은 키노데옥시콜산으로부터 6단계의 짧은 반응 공정으로 합성 할 수 있었다. 본 연구 결과물로서 국내특허 2편을 출원하였고, 1편의 국외 논문발표를 하였다.

제 4장 연구개발 목표 달성도 및 대외기여도

2차년도 연구개발 목표는 squilamine의 전합성 방법의 개발이었고, 이것은 여러 가지 방법으로 시도되어 현재 가장 효율적인 반응경로가 개발되어 있다. 그리고 그와 관련된 몇가지 유도체들의 합성이었다. 현재 유도체들은 개발중에 있으며 점차적으로 더많은 유도체들의 개발에 노력을 기울여 스테로이드계 항생제 및 항바이러스제 등을 합성하고자 한다. 2차년도에서 개발한 스테로이드 모핵의 큰 규모 합성법을 이용하여 더욱 다양한 유도체를 합성하고자 한다. 그리고 계속적으로 이러한 화합물의 약효를 검색을 위한 광범위한 연구들이 이루어질 것이다. 초기에 계획한 2차년도 연구개발 목표중 여러 유도체를 합성하여 약효 검색을 통한 구조-상관 관계에 대한 정보 구축면에서는 조금 미흡한 것은 다단계의 합성 공정을 통해서만 얻을 수 있는 중간체의 수급에 많은 시간과 노력이 필요 했었기 때문이다.

2차년도에는 다량의 유도체를 합성할 수 있는 스테로이드 모핵의 대량 합성 방법을 확립하였고, 이러한 합성법을 토대로하여 활성이 뛰어난 유도체를 합성할 계획이다. 그리고 기존에 연구한 스테로이드 화합물들의 구조-활성 관계를 이용하여 새로운 종류의 항생제를 합성하고자 한다. 이와같은 기술의 확립 영향은 스테로이드계 화합물에 대한 연구가 거의 이루어지지 않은 국내 의약계 뿐아니라 다른 분야의 합성산업에 뻗어나갈 것이라 여겨진다. 또한 감염증 치료제 분야가 국내 의약 산업 분야에 차지하는 비중이 높고, 이 중 항생제와 항바이러스치료제의 합성은 국내 의약계에서도 가능한 품목이라 성공 가능성이 높을 것으로 기대된다. 그리고 스테로이드계 항생제는 국제적으로

상당한 기술의 축적이 이루어진 여타의 다른 항생제와는 달리 국내뿐 아니라 국외에서도 신기술분야로, 새로운 형태의 항생제 개발이 이루어진다면 충분한 경쟁 가능성이 있으리라 여겨진다. 그러므로 스테로이드 화합물을 세계시장으로 수출하게 되면 현재와 같은 시기에 많은 수출효과를 얻을 수 있을 것으로 기대된다.

제 5장 연구개발 결과의 활용계획

본 연구는 지난 2년간 진행되었으며 앞으로 더욱 많은 연구가 수행되어야 할 것이다. 우선 2차년도에 개발한 대조 물질의 합성법에 의해 현재는 대량생산에 들어가 있고, 항생작용을 나타낼 것으로 보이는 후보물질에 대한 설계 및 합성법이 개발 중에 있다. 그리고 이러한 화합물의 약리시험을 위한 시스템의 구축이 현재 이루어지고 있다. 그러므로 현재까지 합성한 스테로이드 화합물들을 이용하여 더욱 활성이 뛰어난 감염증 치료제를 합성하고 활성시험을 한 후, 생리활성 구조-상관관계에 대한 정보를 구축할 계획이다.

현재 스쿠알아민 전합성에 대한 국내 특허가 심사중에 있으며, 또한 스쿠알아민의 중요한 중간체의 새로운 합성방법도 특허 심사중에 있다. 앞으로 본 연구 결과를 국내 시장뿐 아니라 국제 시장에서 상품화 할 수 있는 신약개발에 기초 연구 분야를 활용할 수 있도록 노력을 기울일 것이다.

제 6장 참고문헌

1. Moriarty, R. M.; Enache, L. A. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5139.
2. Goodnow, R.; Konno, K.; Niwa, M. *Tetrahedron* **1990**, *46*, 3267.
3. 김완주, 김득준: 스테로이드 화학. 서울: 민음사. **1992**, 36-46.
4. 이상영, 최용순: 콜레스테롤. 서울: 신광출판사. **1990**, 108-169.
5. Despreaux, C. W.; Rittweger, K. R.; Palleroni, N. *J. Applied & Enviromental Microbiology* **1986**, *51*, 946.
6. Pechulis, A. D.; Bellevue III, F. H.; Cioffi, C. L. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5121.
7. Moriarty, R. M.; Frye, L. L.; Zasloff, M. A. *Steroid deivatives*, **1994**, 20520.
8. Stone, R. *Science* **1993**, *259*, 1125.
9. Israel, M.; Rosenfield, J. S.; Modesr, E. *J. Org. Chem.* **1964**, *7*, 710.
10. Lund, E.; Bjorkhem, I. *Acc. Chem. Res.* **1995**, *28*, 241.
11. Shoda, J.; Axelson, M.; Sjovall, J. *Steroids* **1993**, *58*, 119.
12. Ochi, K.; Matsunaga, I.; Shindo, M. *J. C. S. Perkin I* **1979**, 161.
13. Kim H.-S.; Oh SH.; Kim DI.; Kim IC.; Cho KH.; Park YB., *Biomed. Chem.* **1995**, 367.
14. Miller, L. R.; Needleman, D. H.; Brabson, J. S.; Wang K. S.; Schroepfer, G. *J. Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1987**, *148*, 934.
15. Xuehai Zhang; Meenakshi N. Rao; Stephen R. Jones; William A. Kenney, *J. Org. Cehm.*, **1998**, *63*, 8599

16. Moore et al., *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1993**, *90*, 1354-1358
17. Sills, A. K. et al., *Cancer Res.* **1998**, *58*, 2784
18. Moriarty, R. M et. al., *Tetrahedron Letters* **1994**, *35*, 8103,
19. Pechulis, A. D. et. al. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 5121)
20. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 5139-5142

여 백

Nonnucleoside Reverse Transcriptase

Inhibitor에 관한 연구

Studies on the Nonnucleoside Reverse

Transcriptase Inhibitors

담당책임연구원 : 손 종 찬

선 임 연구원 : 이 연 수

이 일 영

위 촉 연구원 : 김 신 걸

신 선 실

여 백

요 약 문

I. 제 목

Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor에 관한 연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

전 세계적으로 1000만명 이상이 HIV에 감염되어 있고 그 중 수백만명이 AIDS 환자인 것으로 알려져 있다. 그러나 효과적인 AIDS 치료제 개발은 아직도 요구되고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 새로운 AIDS 치료제 개발의 일환으로 HIV-1에 활성을 갖는 새로운 화합물을 탐색하고자 하였다.

III. 연구개발의 내용 및 범위

AIDS 치료제로 사용되고 있는 delavirdine의 새로운 유도체 및 MKC-442의 새로운 유도체를 합성하여 HIV-1에 대한 활성을 검색하였다. 또한 MKC-442의 새로운 유도체 합성방법도 연구되었다.

IV. 연구개발 결과

합성된 6가지의 delavirdine 유도체들은 모두 HIV-1에 대하여 활성도가 없었으나 8가지의 MKC-442유도체들은 HIV-1에 대한 활성도를 어느정도 유지하였다. 따라서 MKC-442유도체들은 좋은 lead 화합물로 판단된다. MKC-442 유도체의 새로운 합성방법도 확립되었다.

V. 연구개발결과의 활용계획

본 연구에서 획득한 MKC-442계열의 lead compound는 molecular modeling을 통하여 HIV-1에 활성이 강한 새로운 화합물을 디자인하는 데 활용할 예정이며, MKC-442의 합성방법 연구결과는 국내외 학술지에 발표할 예정이다.

여 백

SUMMARY

I. Subject

Studies on the Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors

II. Purpose and Importance of the Study

It is known that over 10 million people are seropositive against HIV-1. Of them, several million people are AIDS patients and they are still waiting for the development of highly efficient drugs to remedy themselves. As a part of the development of drugs for AIDS, the synthesis of new anti-HIV-1 agents have been surveyed in this study.

III. Contents and Scope of the Study

New derivatives of Delavirdine and MKC-442 have been prepared and tested against HIV-1 in vitro. The synthetic method of new MKC-442 derivatives have also been studied.

IV. Results

Six kinds of Delavirdine derivatives prepared in this study showed no activity against HIV-1. However, eight kinds of MKC-442 derivatives showed moderate activity against HIV-1. The synthetic methods of MKC-442 derivatives was also established.

V. Application of the Research

The results from the studies of MKC-442 will be used for the designing of potent anti-HIV agents through molecular modeling. The results of the synthetic method for the MKC-442 derivatives developed in this study will be published in the literature.

여 백

Contents

I . Introduction	83
II . State of the Art	86
III . Methods	94
Section 1. Contents	94
Section 2. Experimental	110
Section 3. Results	130
IV . Achievment of the Research	133
V . Application of the Reasearch	133
VI . References	134

여 백

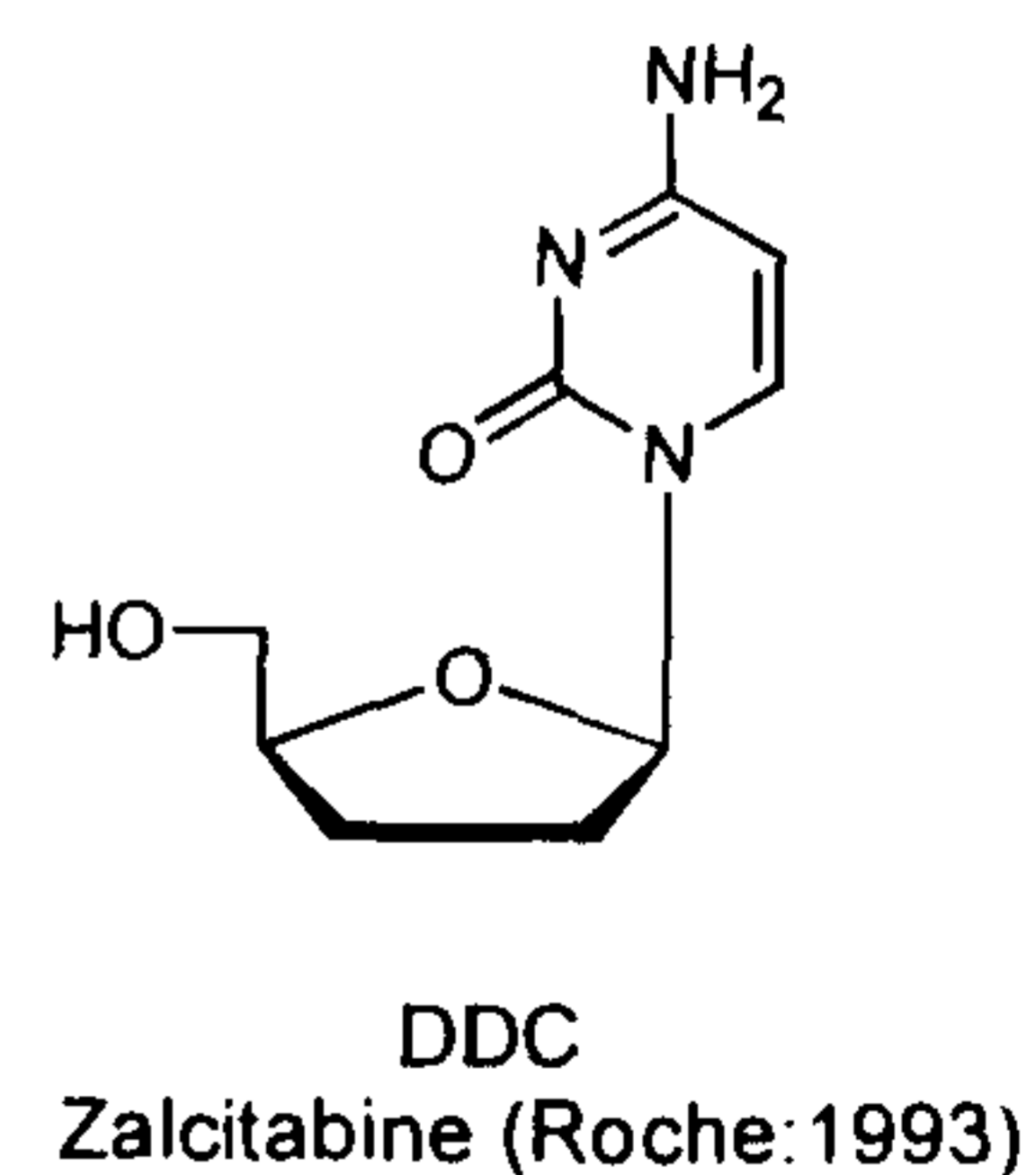
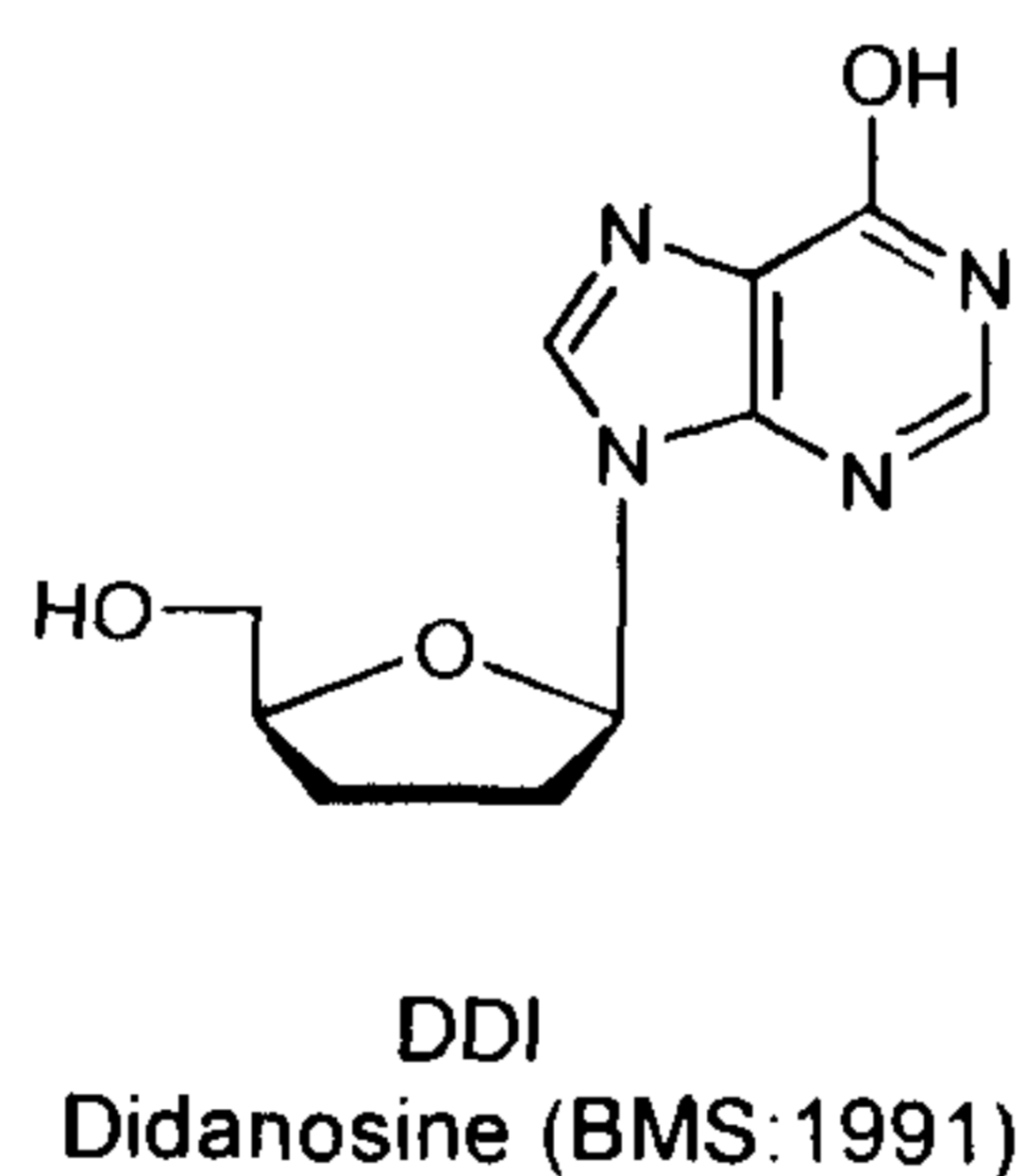
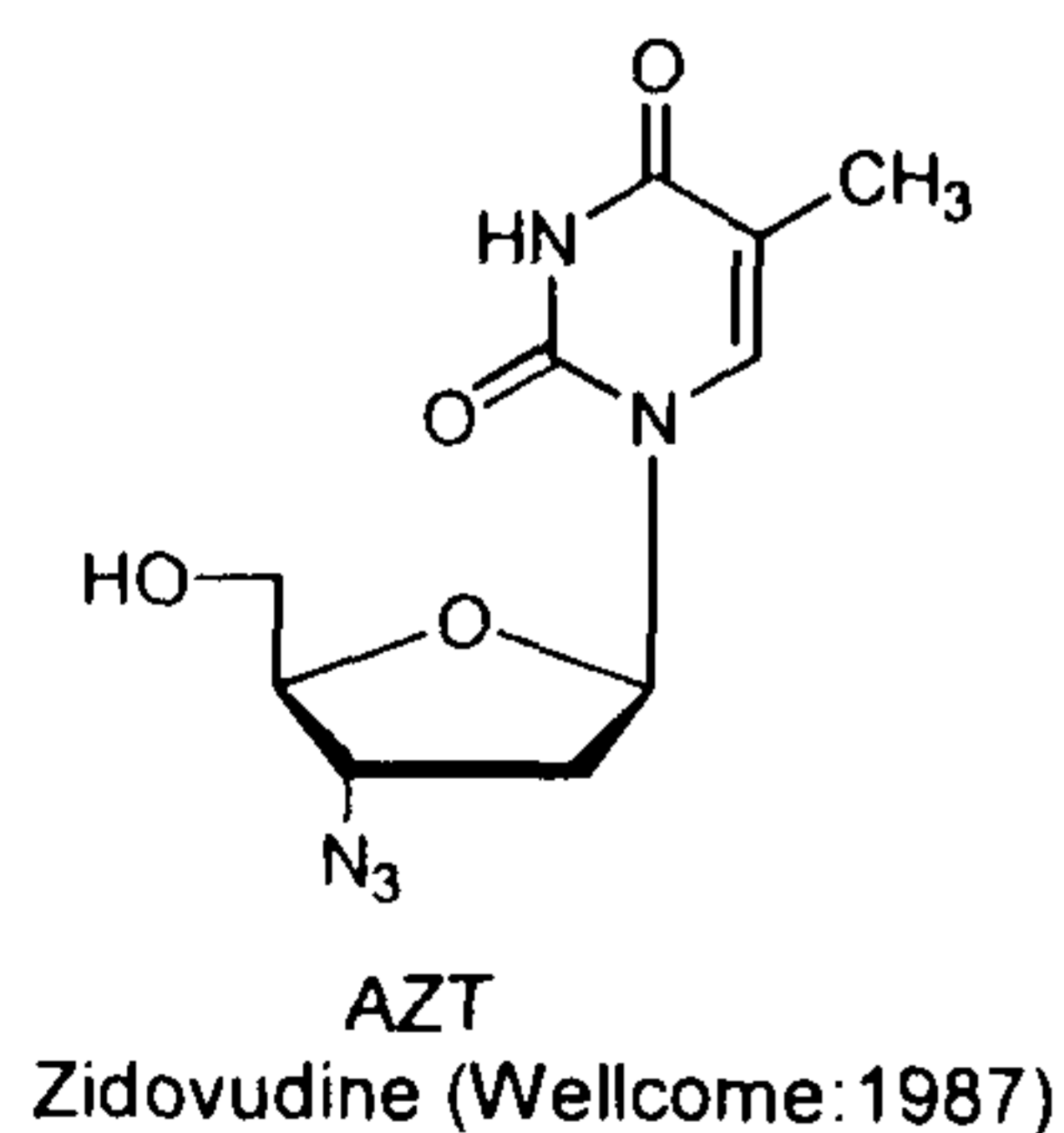
목 차

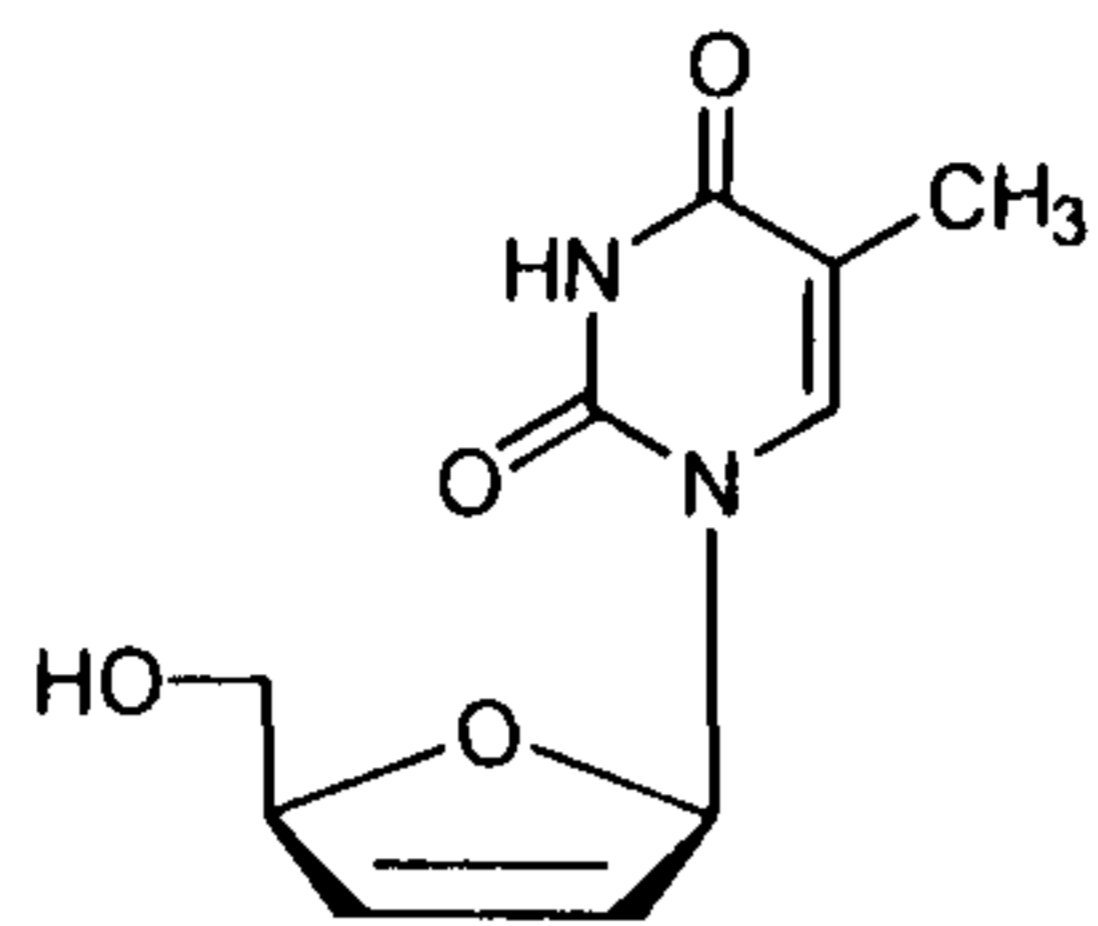
제 1 장 서 론	83
제 2 장 국내외 기술개발 현황	86
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과	94
제 1 절 연구내용	94
제 2 절 실험내용	110
제 3 절 연구결과	130
제 4 장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도	133
제 5 장 연구개발결과의 활용계획	133
제 6 장 참고문헌	134

여 백

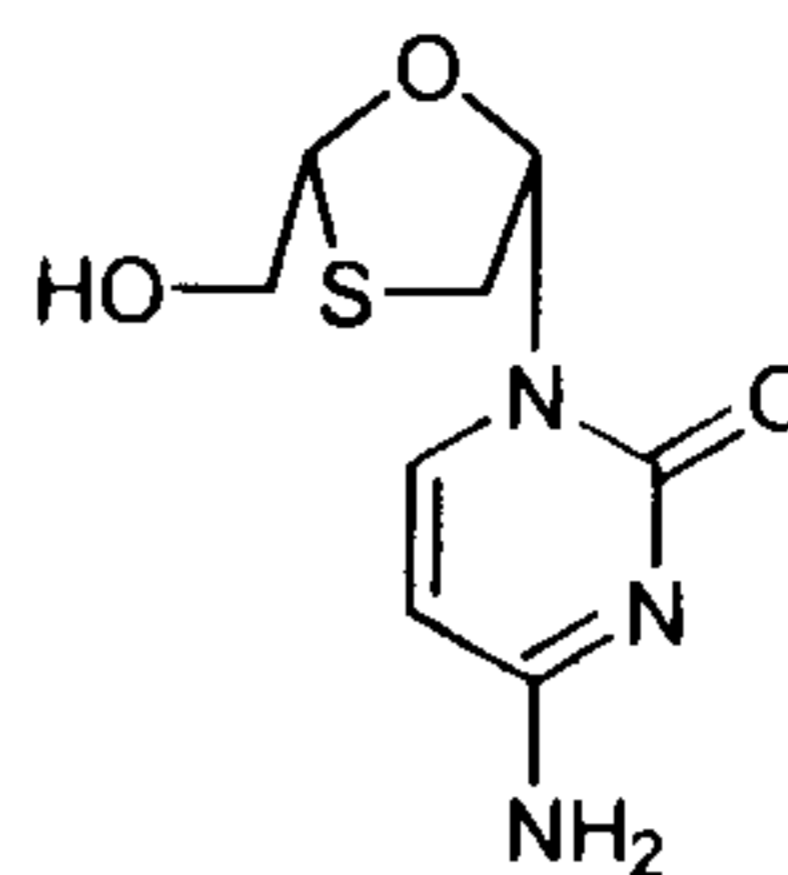
제 1 장 서 론

AIDS(acquired immunodeficiency syndrom)의 치료제 개발을 위한 연구는 병원체로 알려진 HIV(human immunodeficiency virus)의 life cycle이 밝혀짐에 따라 다각적인 방면에서 시도되고 있다. 그 중에서도 HIV의 life cycle에 핵심적 역할을 하는 두가지 효소 즉, 역전사효소(reverse transcriptase) 및 단백질 분해효소(protease)의 차단제 개발에 관한 연구가 집중적으로 진행되어 왔다. 그 결과 역전사 효소 저해제로는 AZT, DDI, DDC, D4T, 3TC, Nevirapine, Delavirdine 및 DMP-266(Efavirenz, Sustiva)이 AIDS 치료제로 FDA의 승인을 얻었고 Protease 저해제로는 Invirase, Norvir, Crixivan 및 Viracept와 같은 총 12가지 화합물들이 현재 FDA의 승인을 얻어 AIDS 치료제로 사용되고 있다.

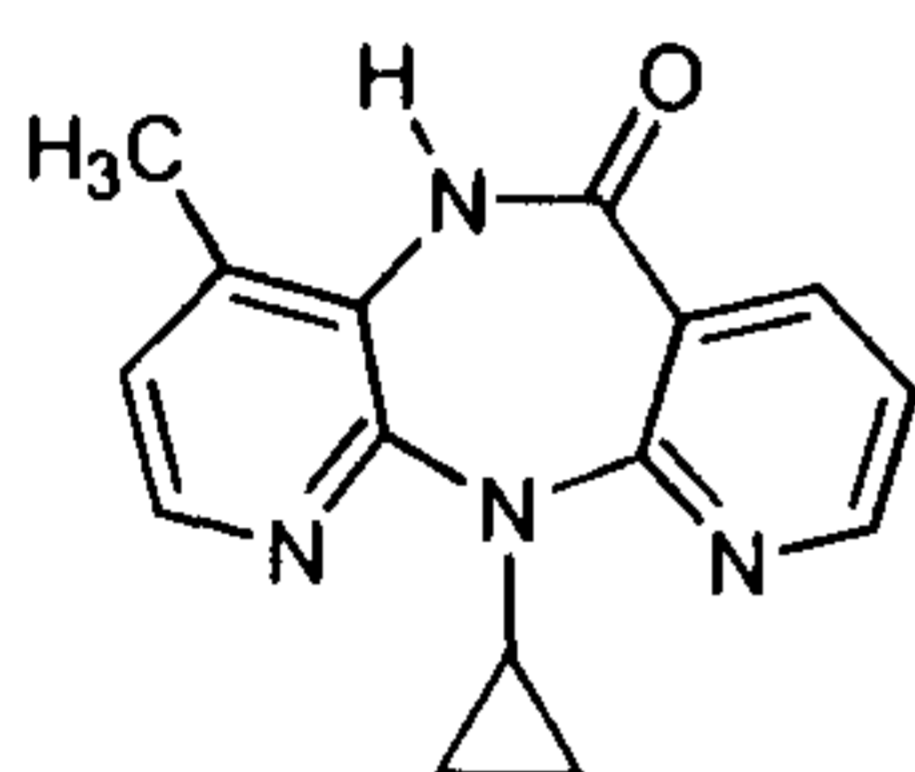




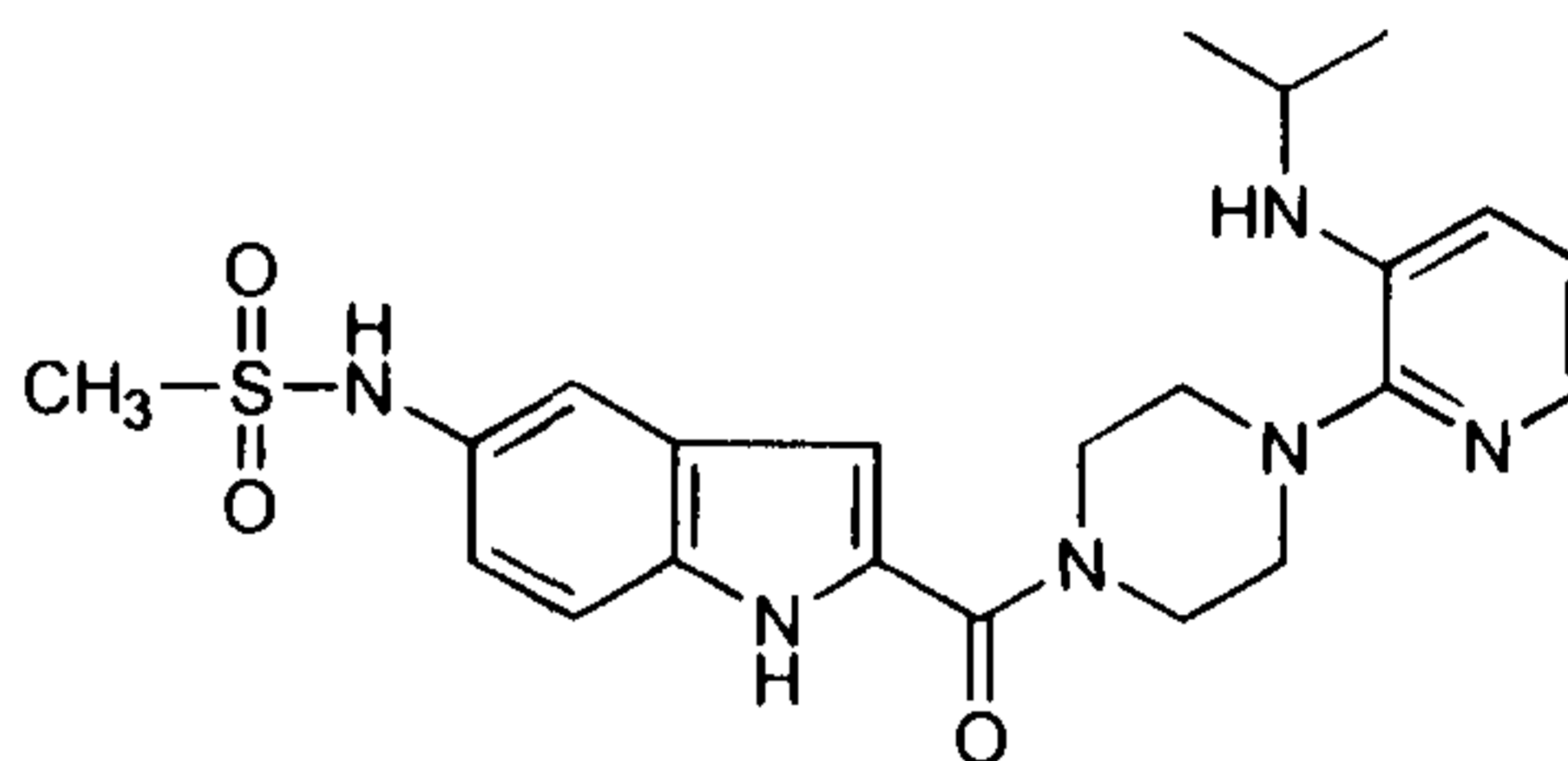
D4T
Stavudine (BMS:1995)



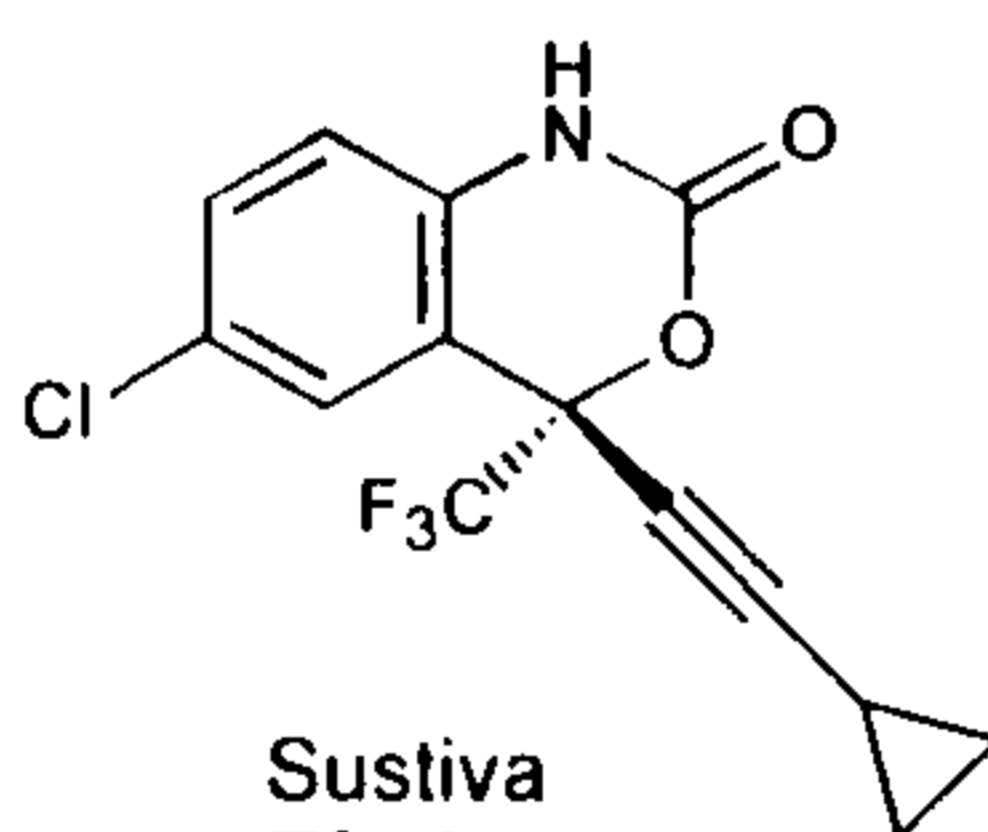
3TC
Lamivudine (Glaxo Wellcome:1995
combination with AZT)



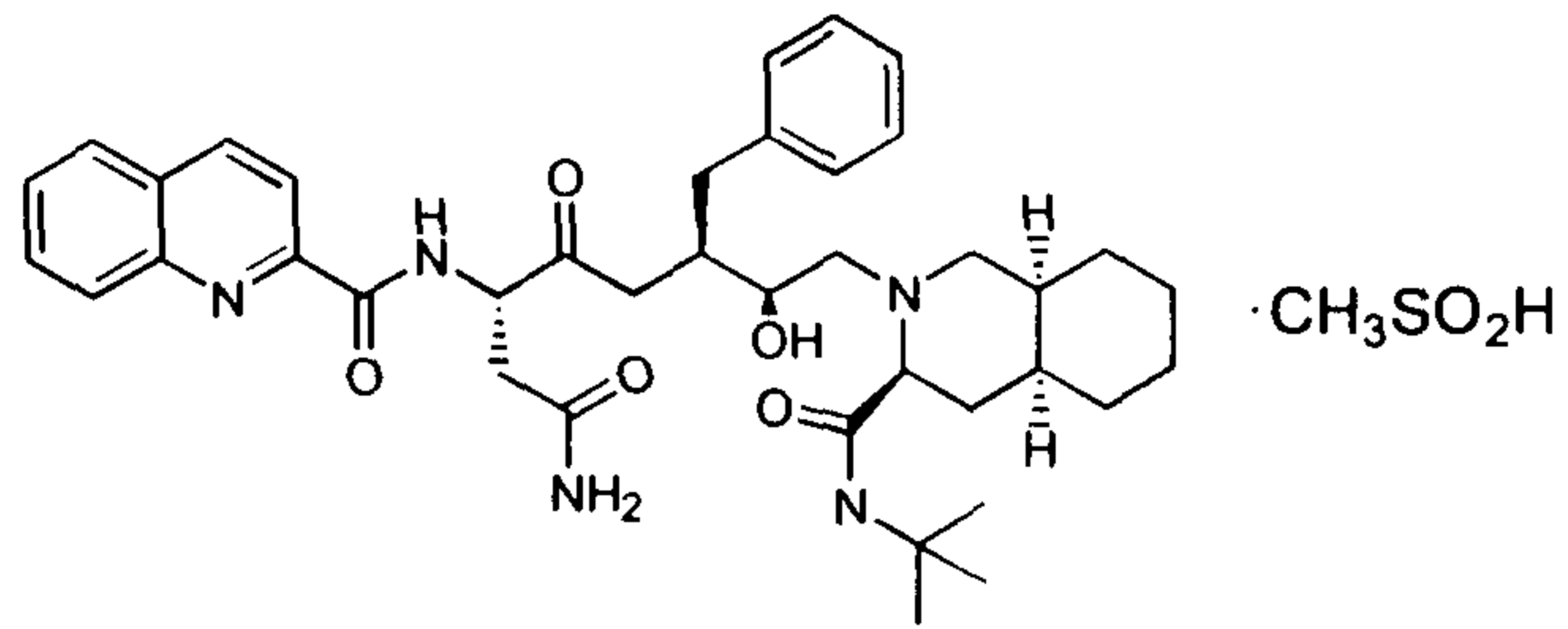
Nevirapine (Viramune)
(Boehringer Ingelheim:1996)



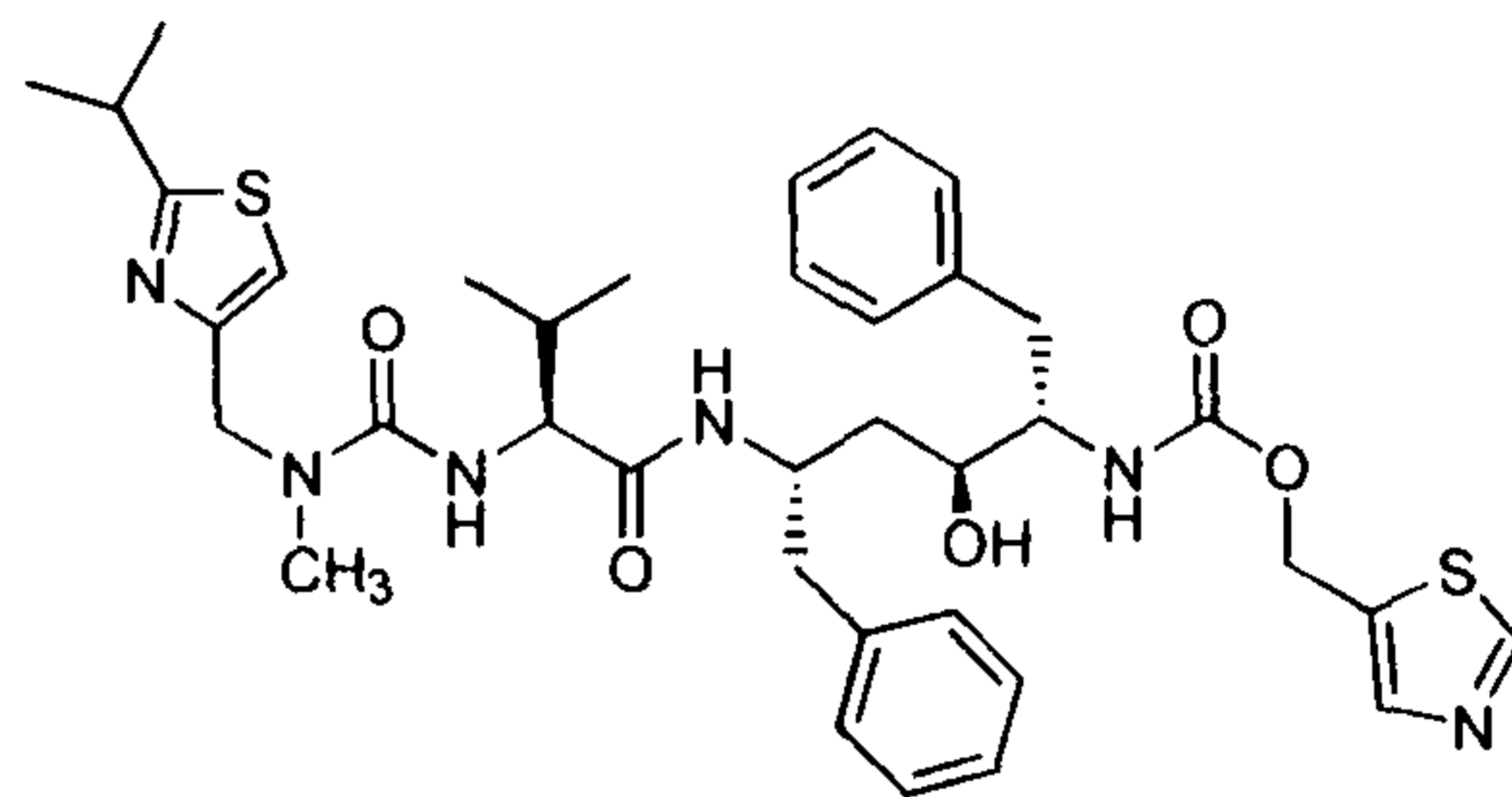
Delavirdine (Rescriptor)
U-90152S
combination with AZT and DDI



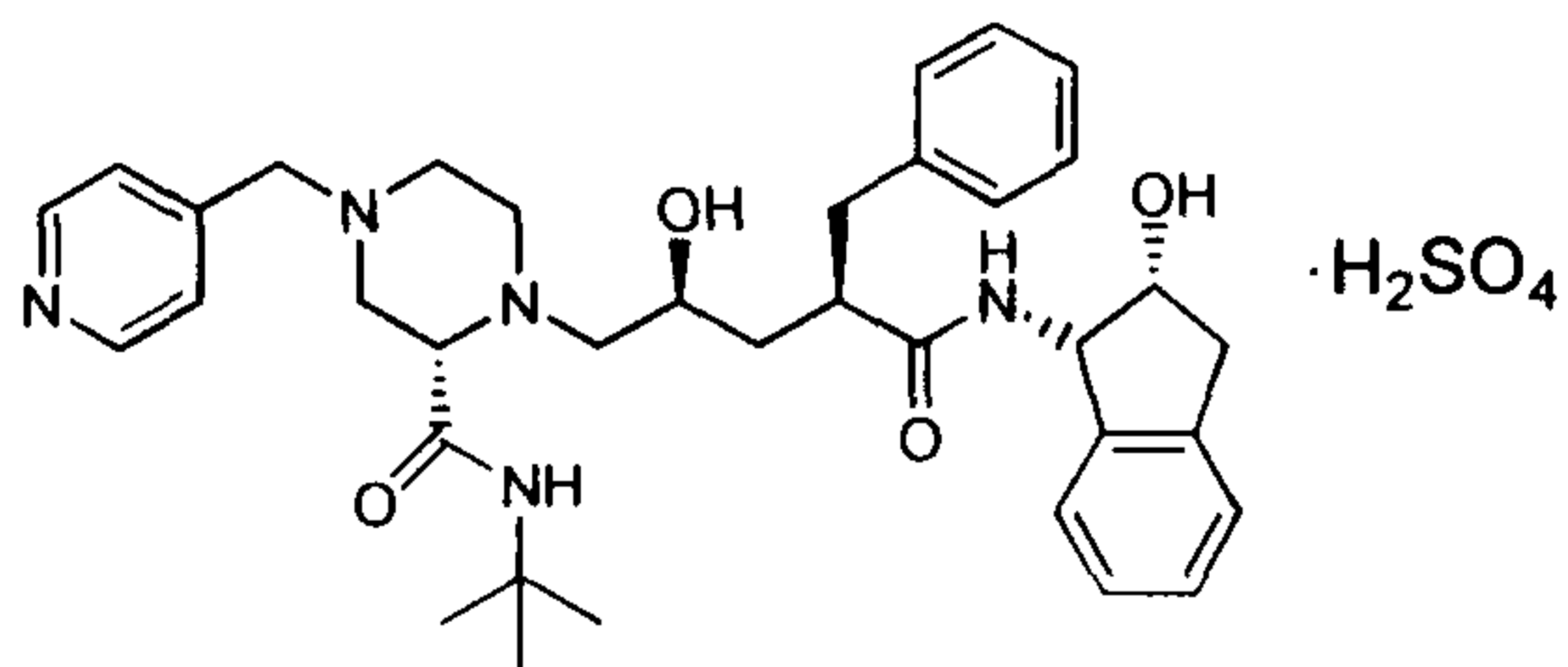
Sustiva
Efavirenz
DMP-266
(Merck, 1998)



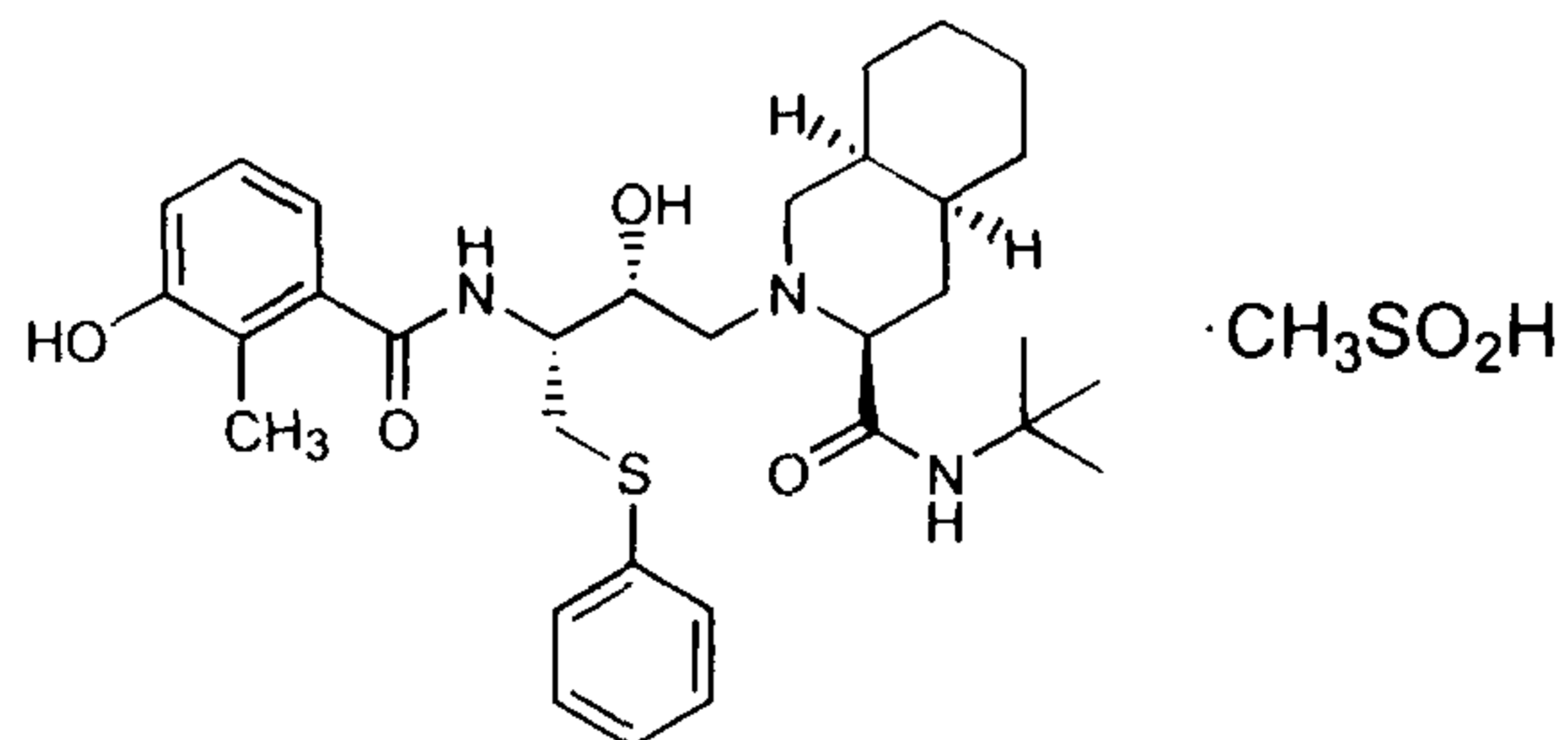
Invirase
Saquinavir mesylate (Roche:1995)



Norvir
Ritonavir (Abbott:1996)



Crixivan
Indinavir sulfate (Merck:1996)

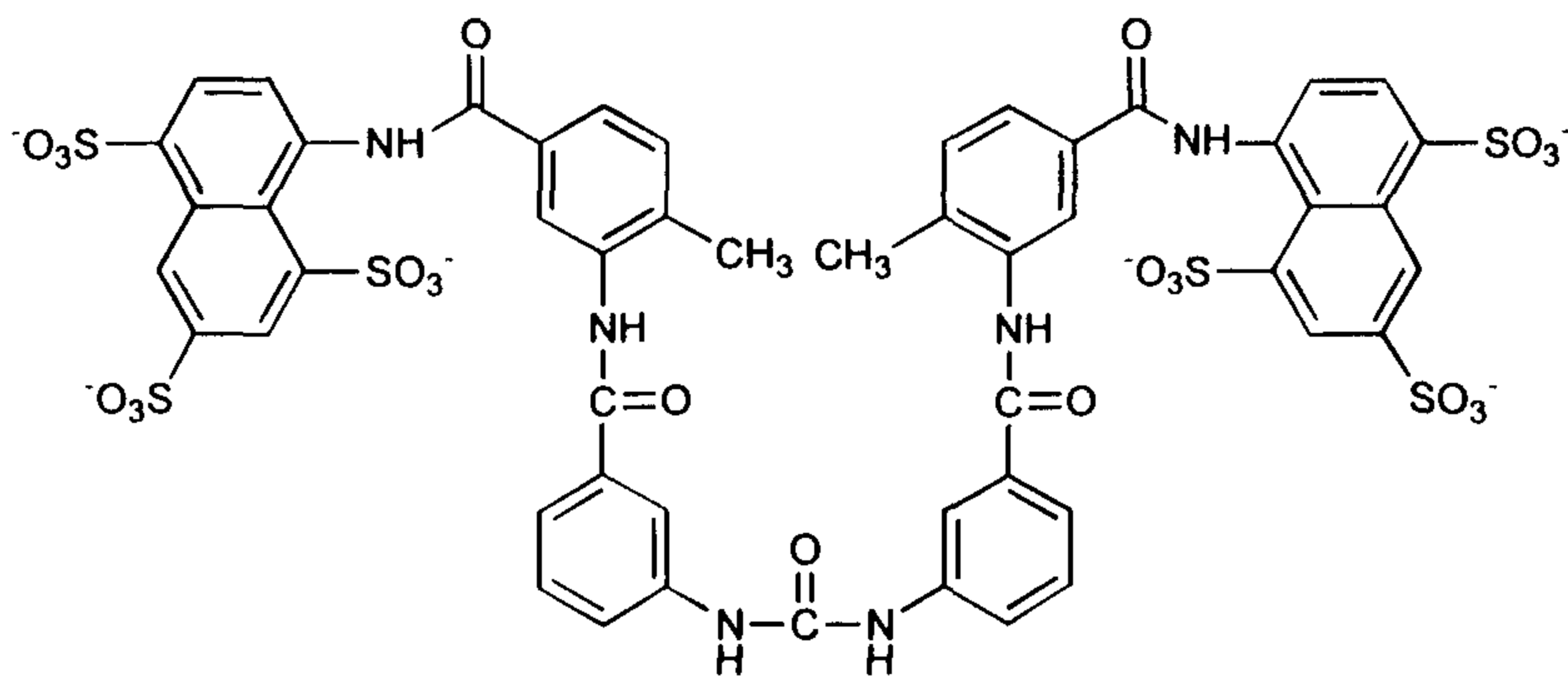
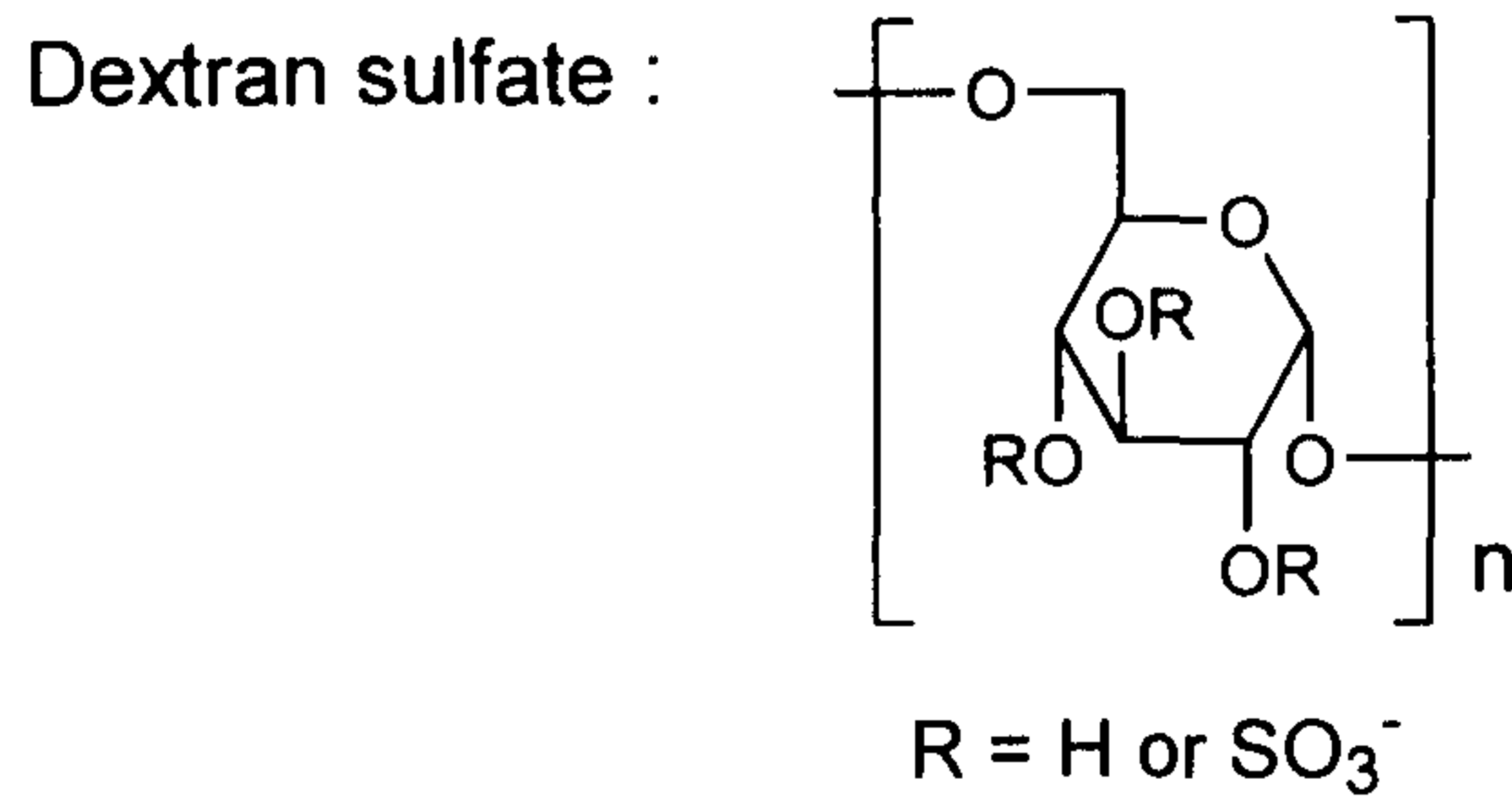


Viracept
Nelfinavir mesylate (Agour:1997)

로 연구되고 있는 내용을 화합물별로 요약하면 다음과 같다.¹⁻³⁾

1. Virus adsorption

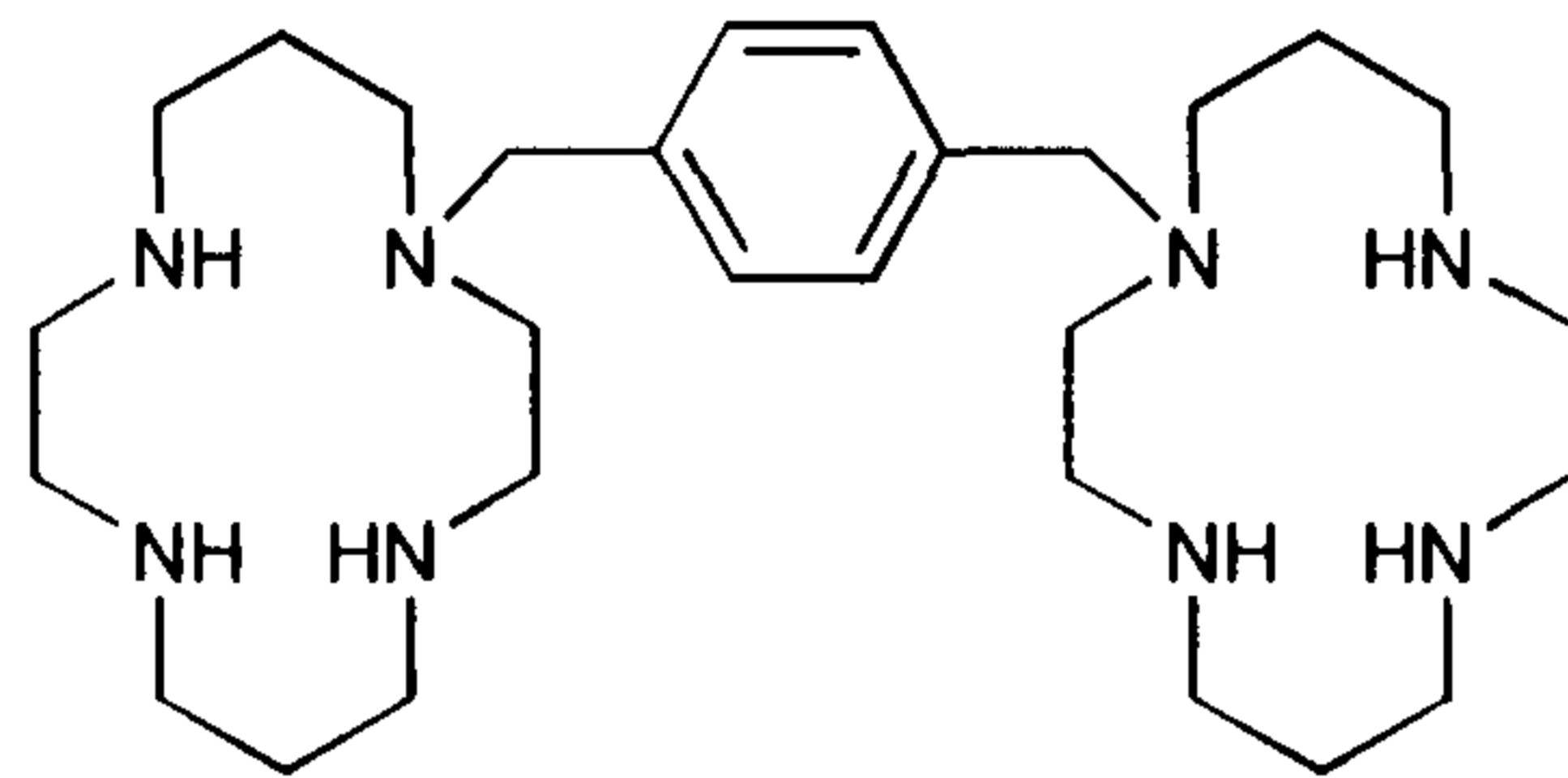
HIV가 인체의 T4 세포에 침투하기 위한 첫 단계로서 최근에는 CXCR₄로 불리는 T4 세포에 secondary receptor가 존재한다는 사실이 발견되었다. 이 때 HIV의 GP120이 중요한 역할을 하는데 상기 glycoprotein의 V3 loop가 polyanionic 화합물들과 잘 결합한다는 사실이 밝혀져 이러한 성질을 이용하여 GP120의 기능을 무력화시키는 AIDS 치료제 연구가 진행되고 있으며 대표적 화합물로는 suramin 및 dextran sulfate 등이 있다.



(Suramin)

2. Virus-cell fusion

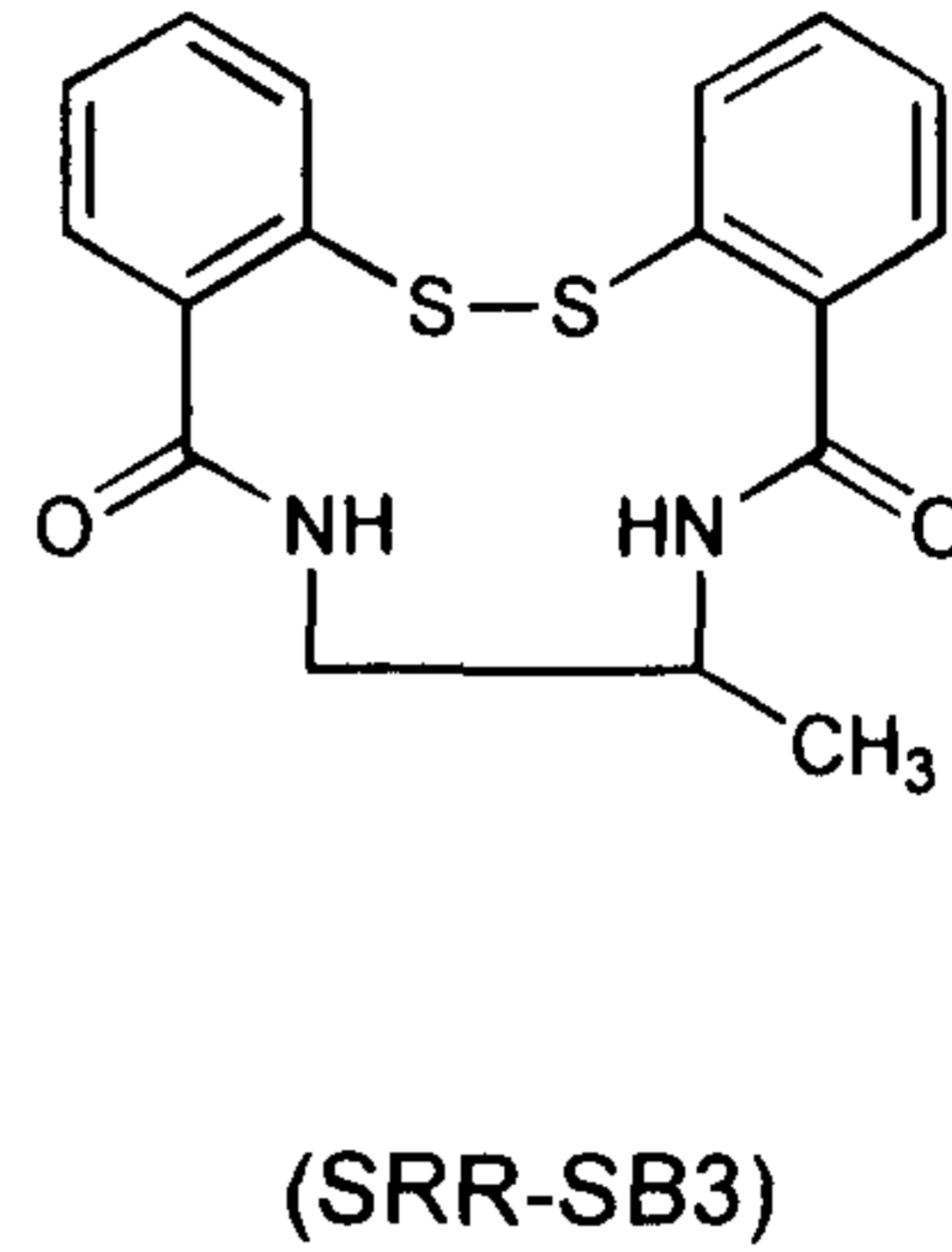
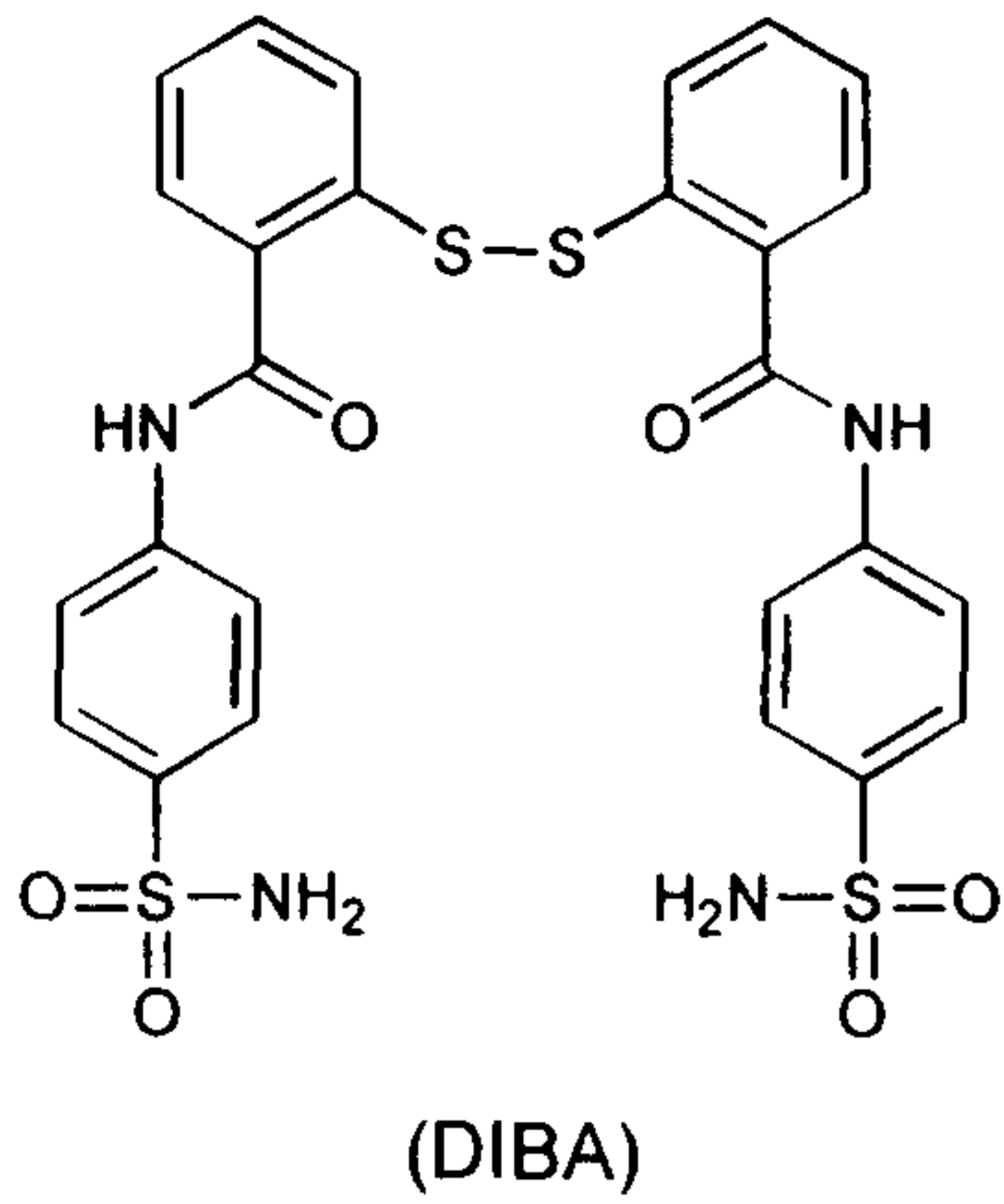
HIV가 T4세포내에 침투해 들어가는 단계로서 이러한 상호작용을 무력화시키는 화합물로는 Bicyclam 유도체들이 있는데 이들은 CXCR₄ receptor에 binding하는 것으로 알려져 있으며 대표적 화합물로는 JM 3100이 있다.



(JM 3100)

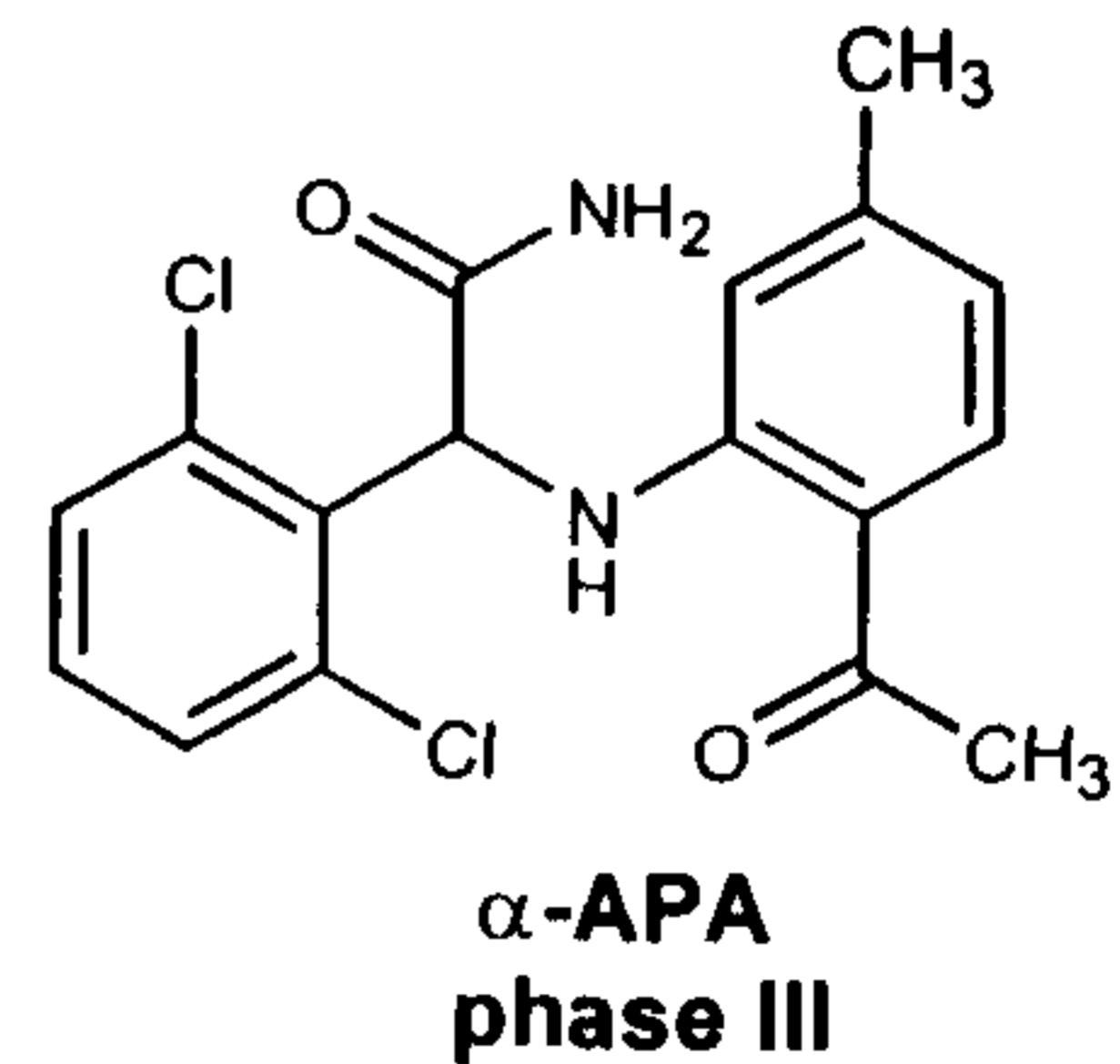
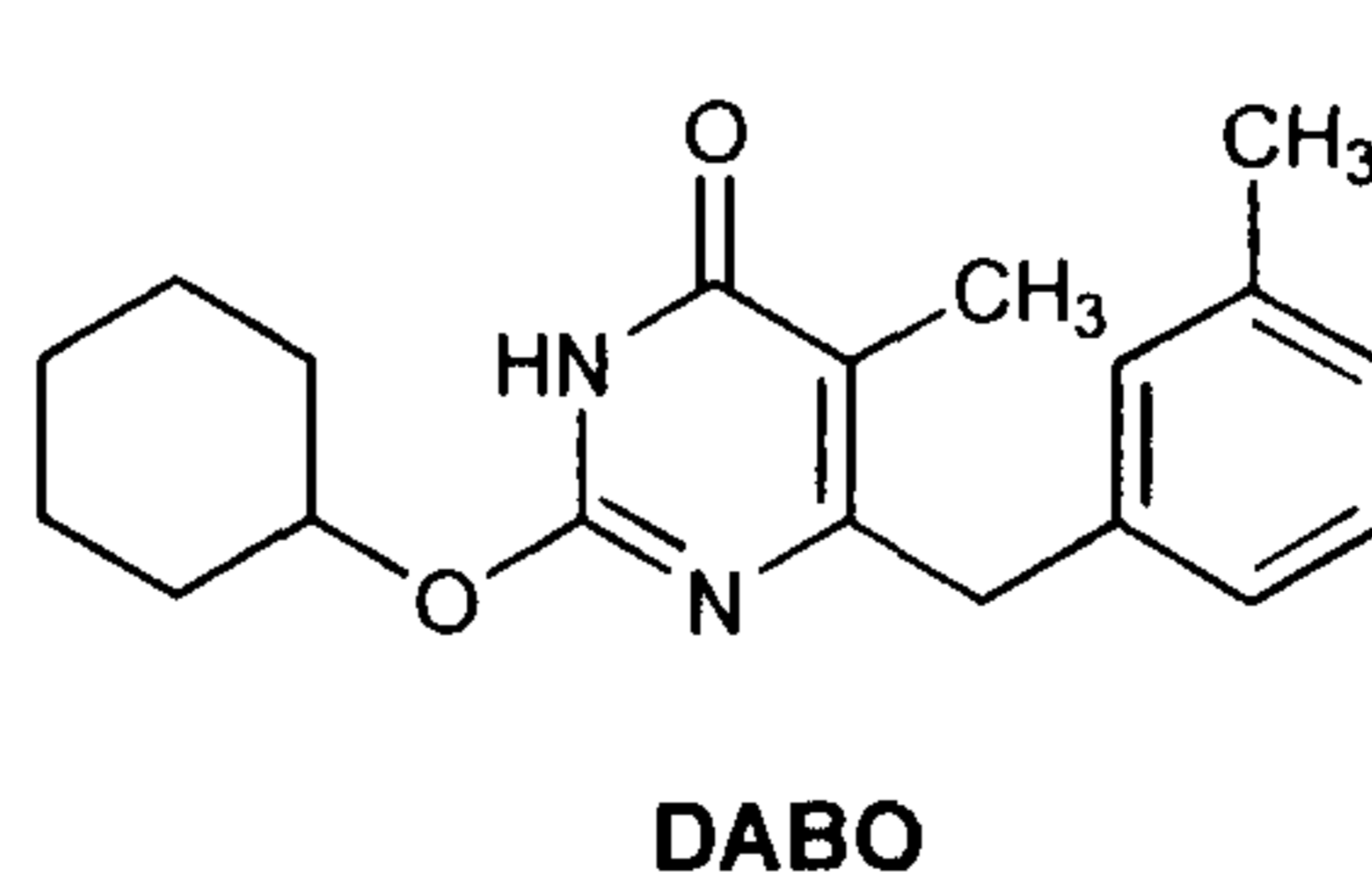
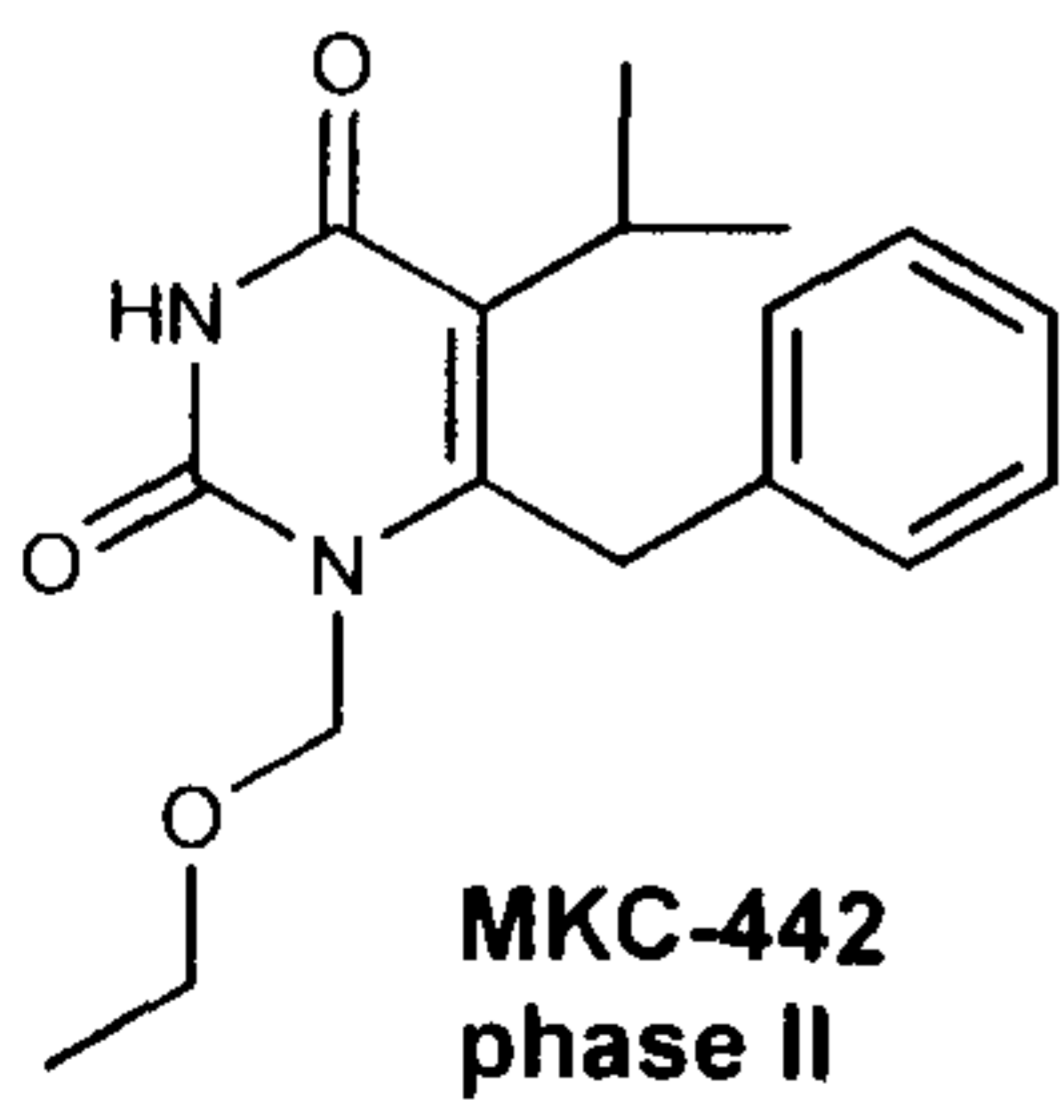
3. Virus uncoating

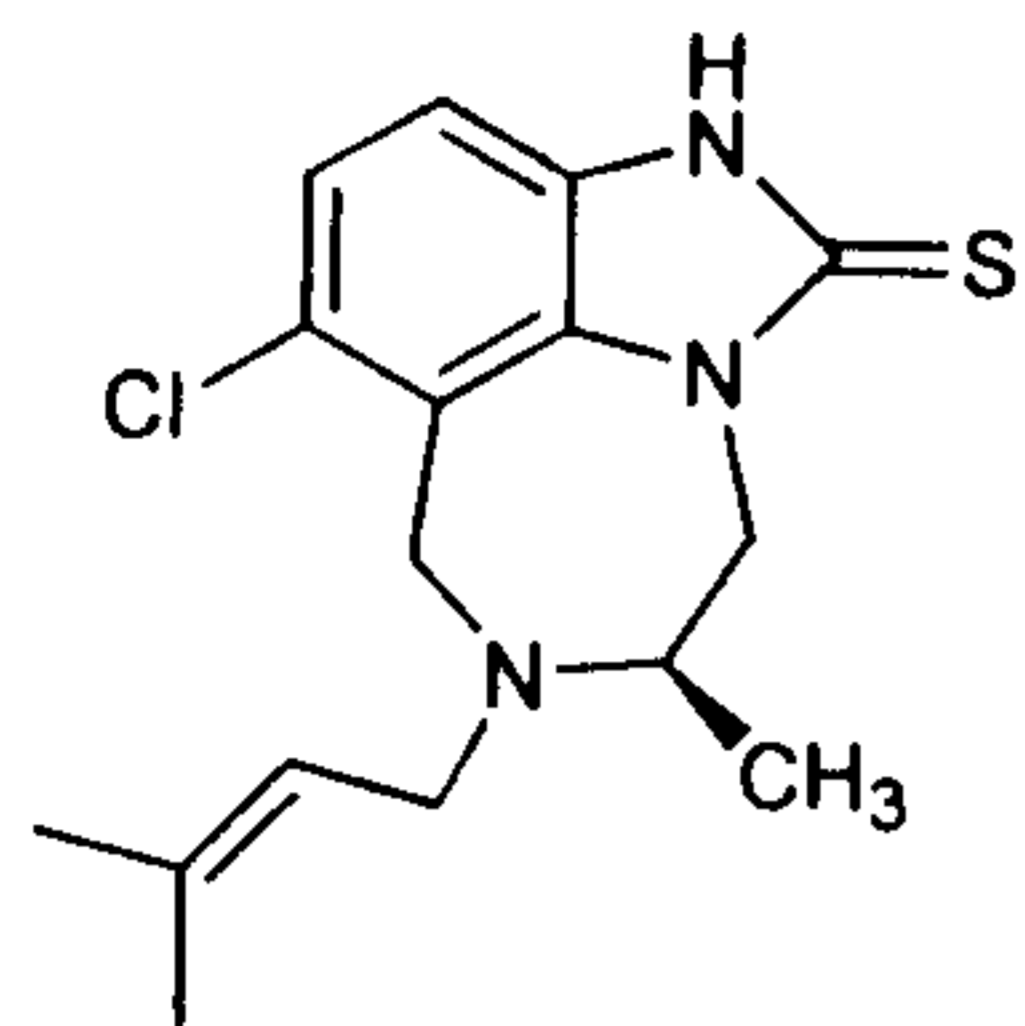
HIV의 RNA를 감염세포에 release시키는 과정인데 두 개의 zinc finger를 가진 nucleocapsid(NC) protein인 P7으로부터 zinc ion을 제거하는 것이 연구 target이며 이러한 역할을 하는 화합물로는 DIBA 및 SRR-SB3가 알려져 있다.



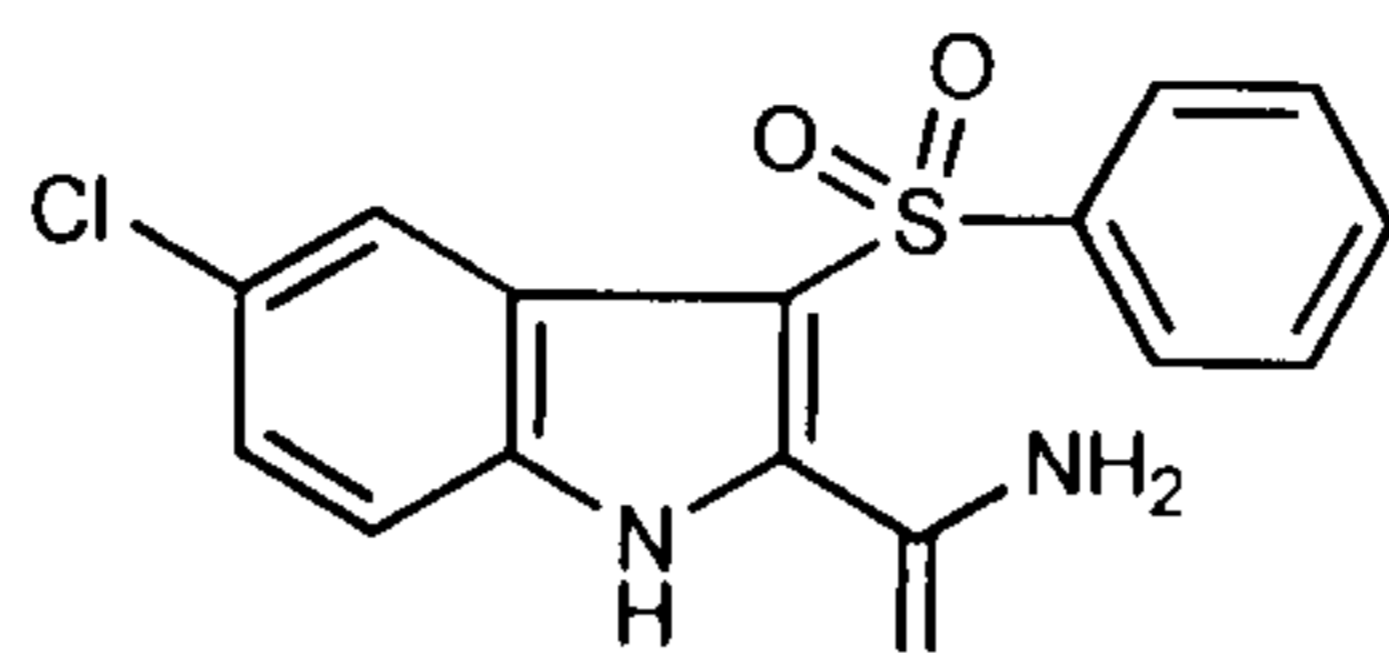
4. Reverse transcription

HIV의 RNA로부터 HIV의 DNA를 합성하는 과정으로서 reverse transcriptase(RT)로 불리는 효소에 의해서 이루어진다. 따라서, RT 효소를 무력화시키는 저해제 연구가 지난 10 여년간 가장 활발히 진행되었다. 그 결과 서론에 언급한 바와 같이 nucleoside 계열 화합물(NRTI)의 5종류 및 nonnucleoside 계열 화합물(NNRTI)의 3종류가 AIDS치료제로 FDA의 승인을 얻었으며 그 밖에도 많은 종류의 화합물들이 연구되고 있는데 대표적인 화합물들을 요약하면 다음과 같다.

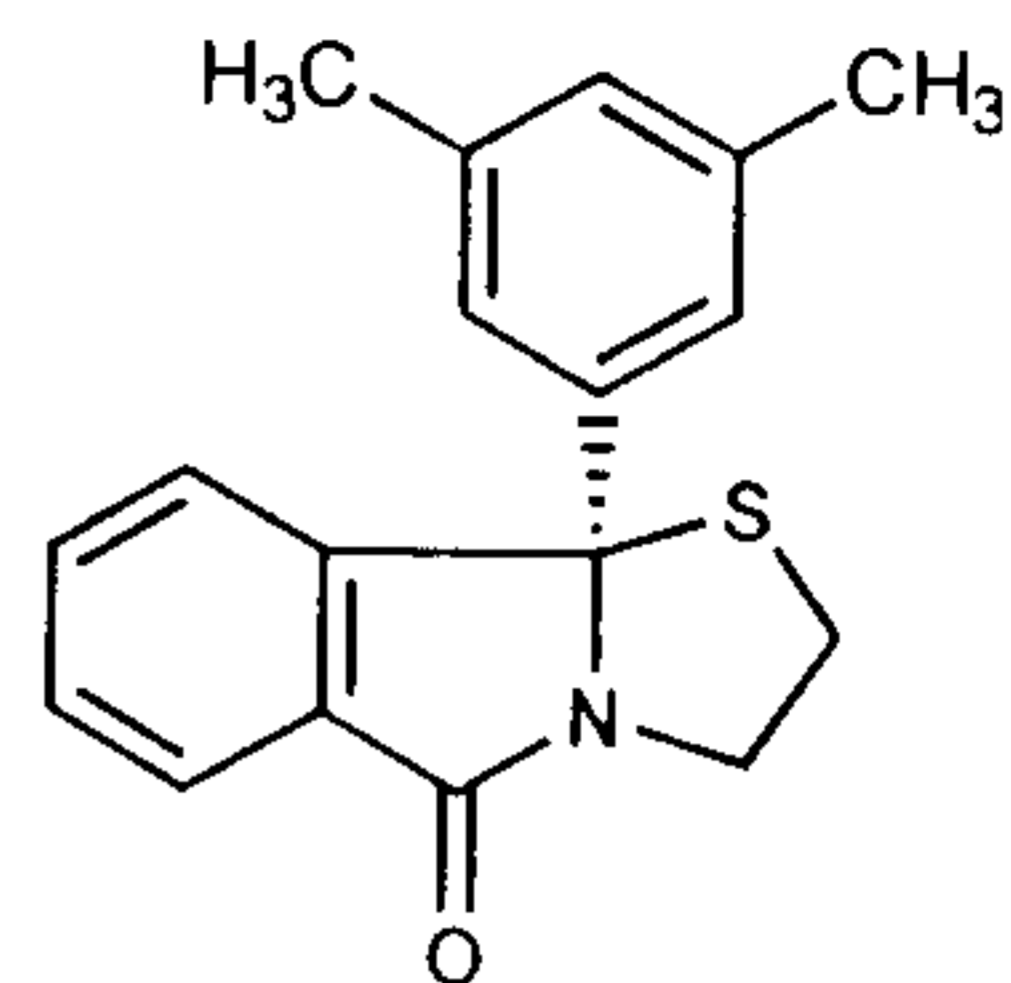




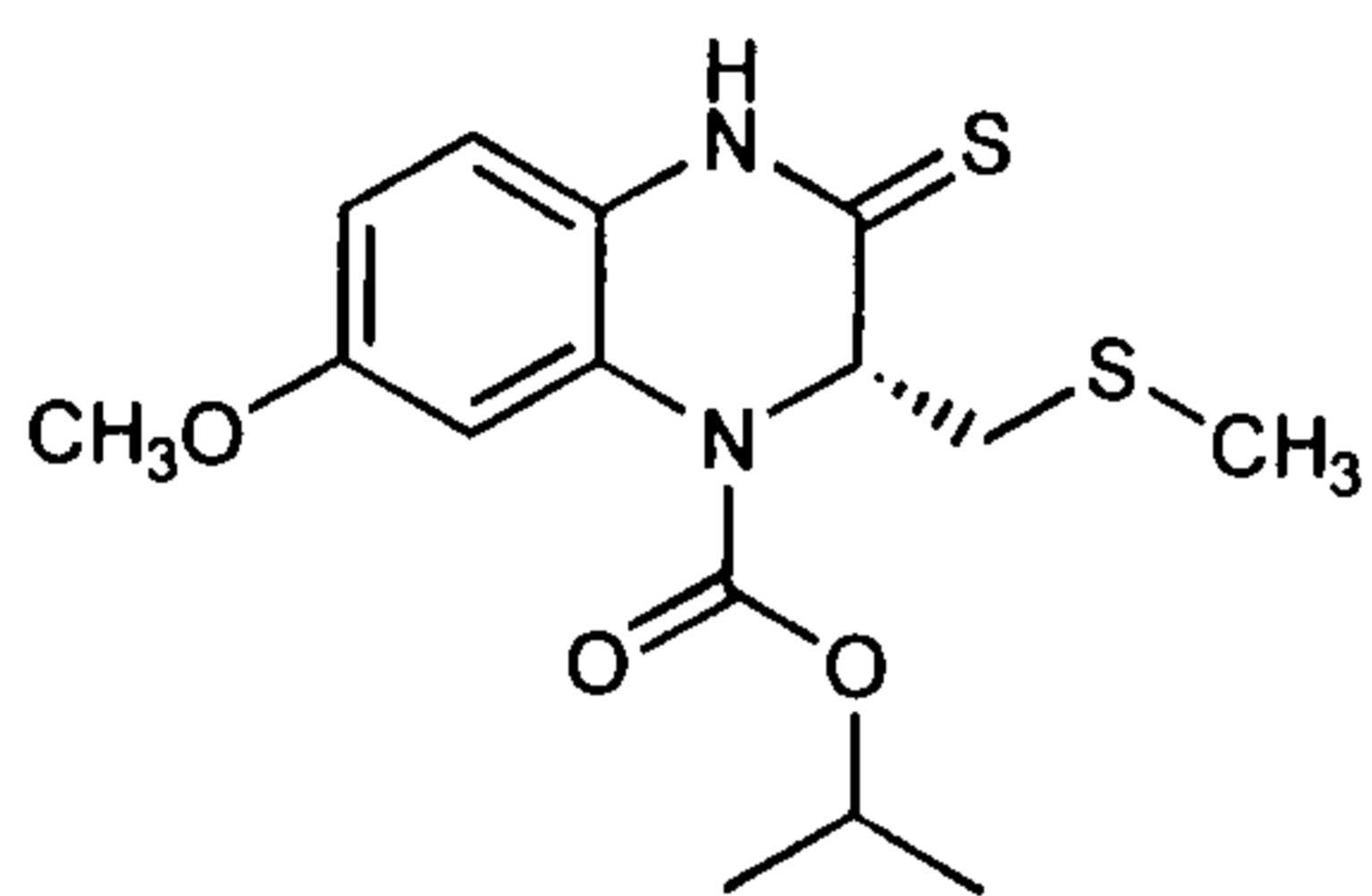
Tivirapine



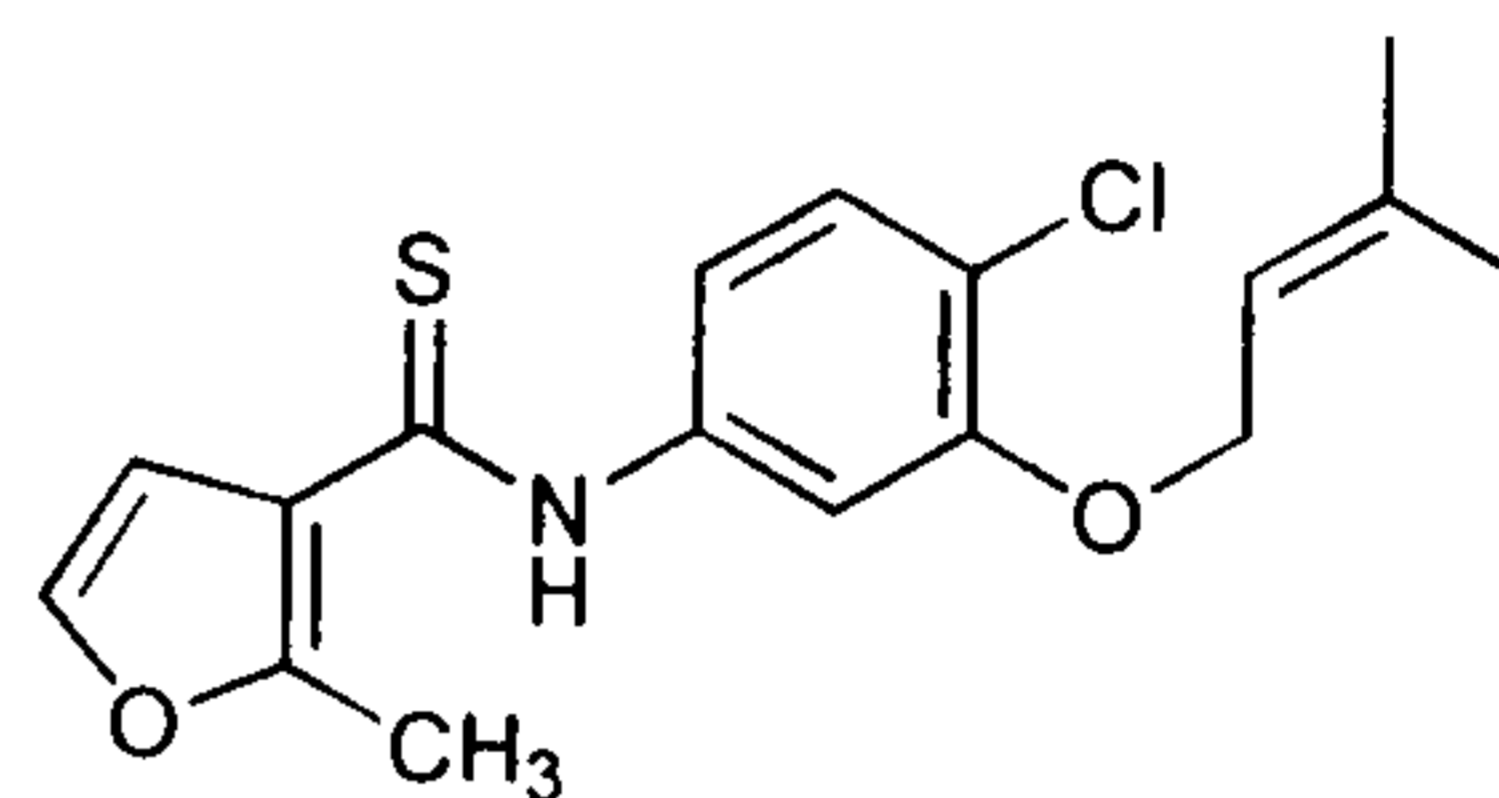
L-737, 126



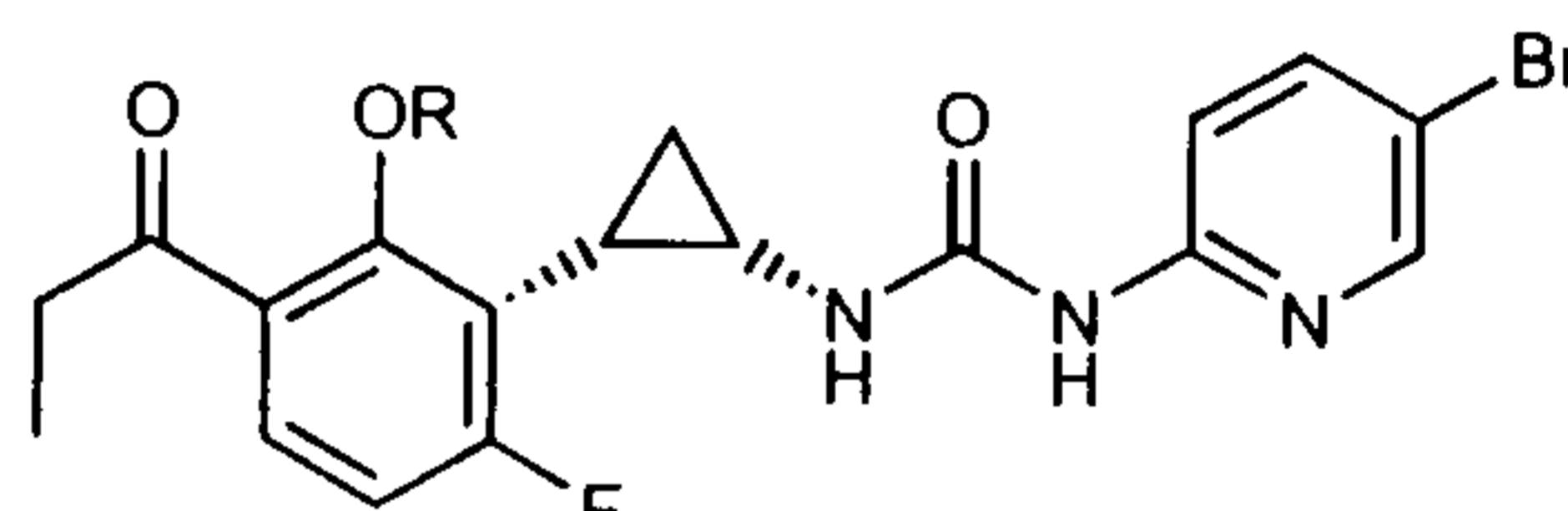
BM+51.0836



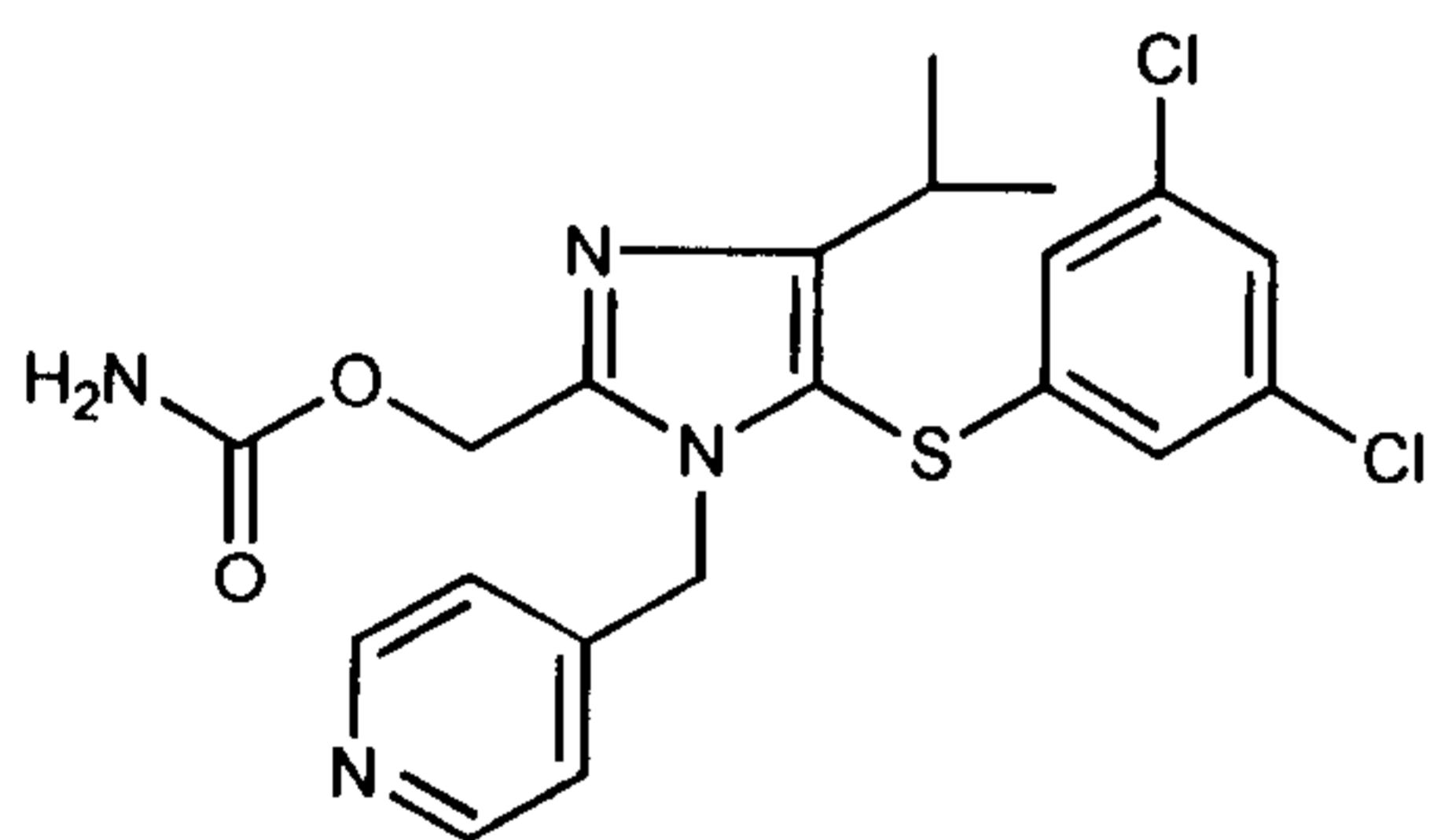
**HBY097
phase II**



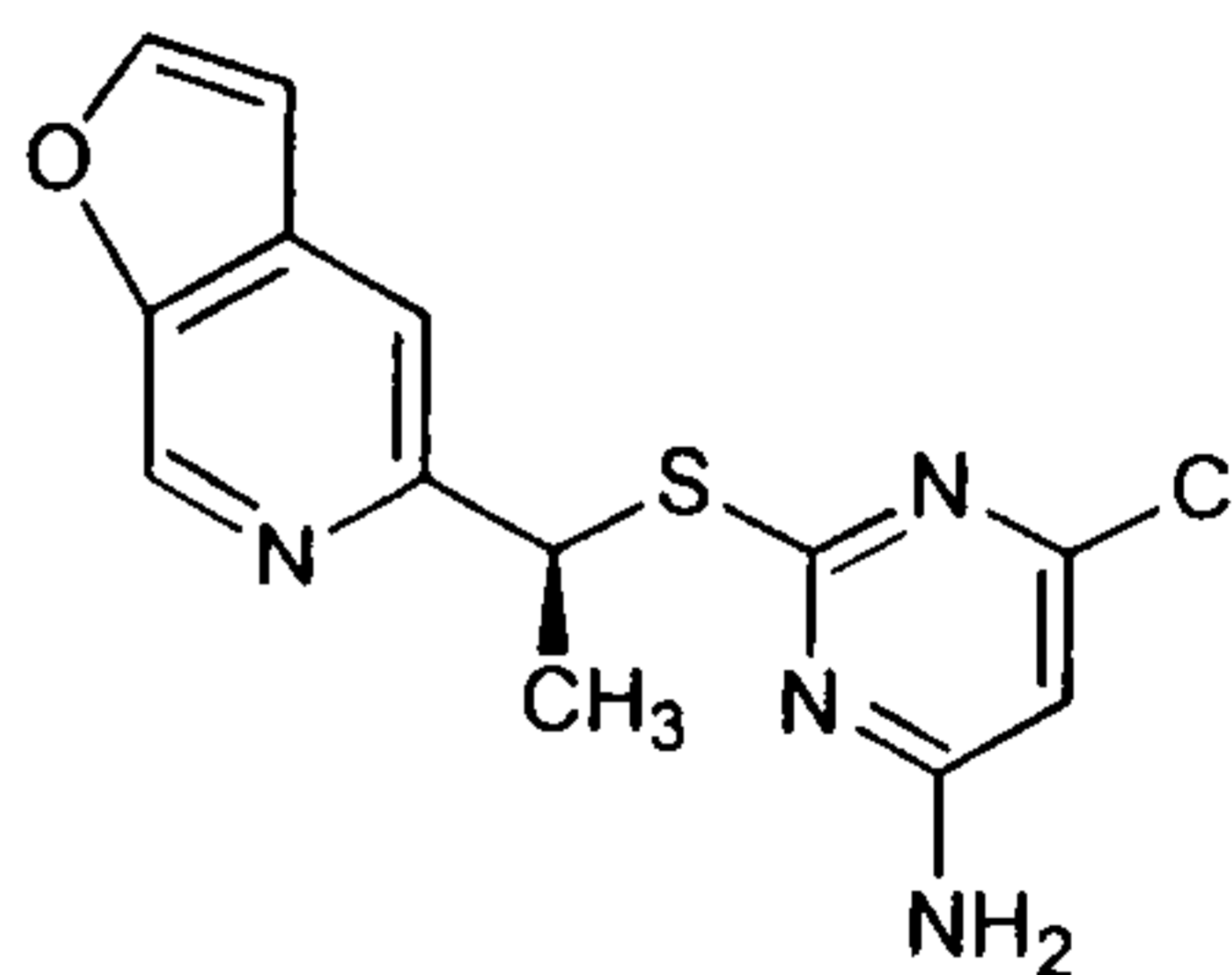
UC-781



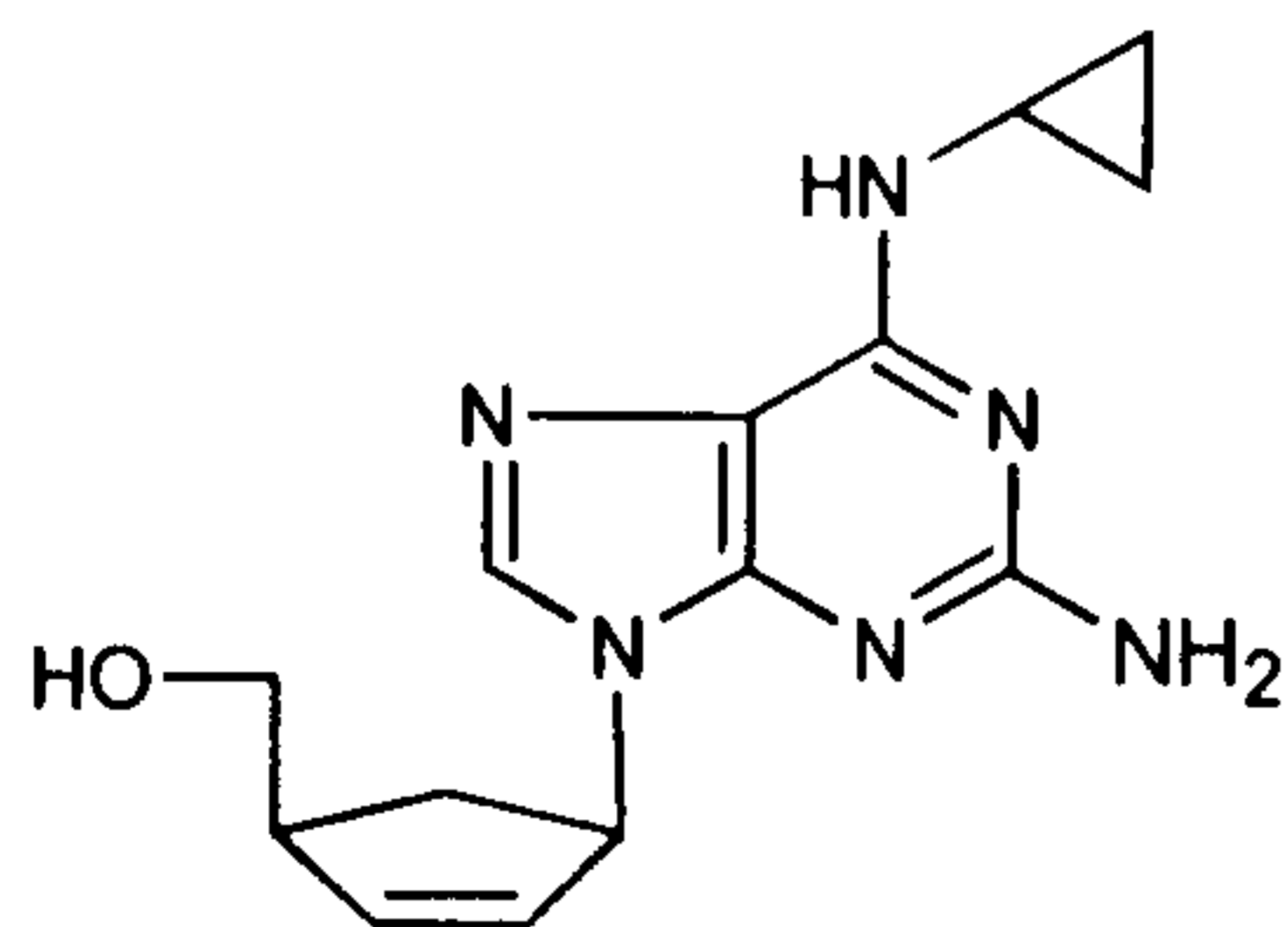
PETT-4



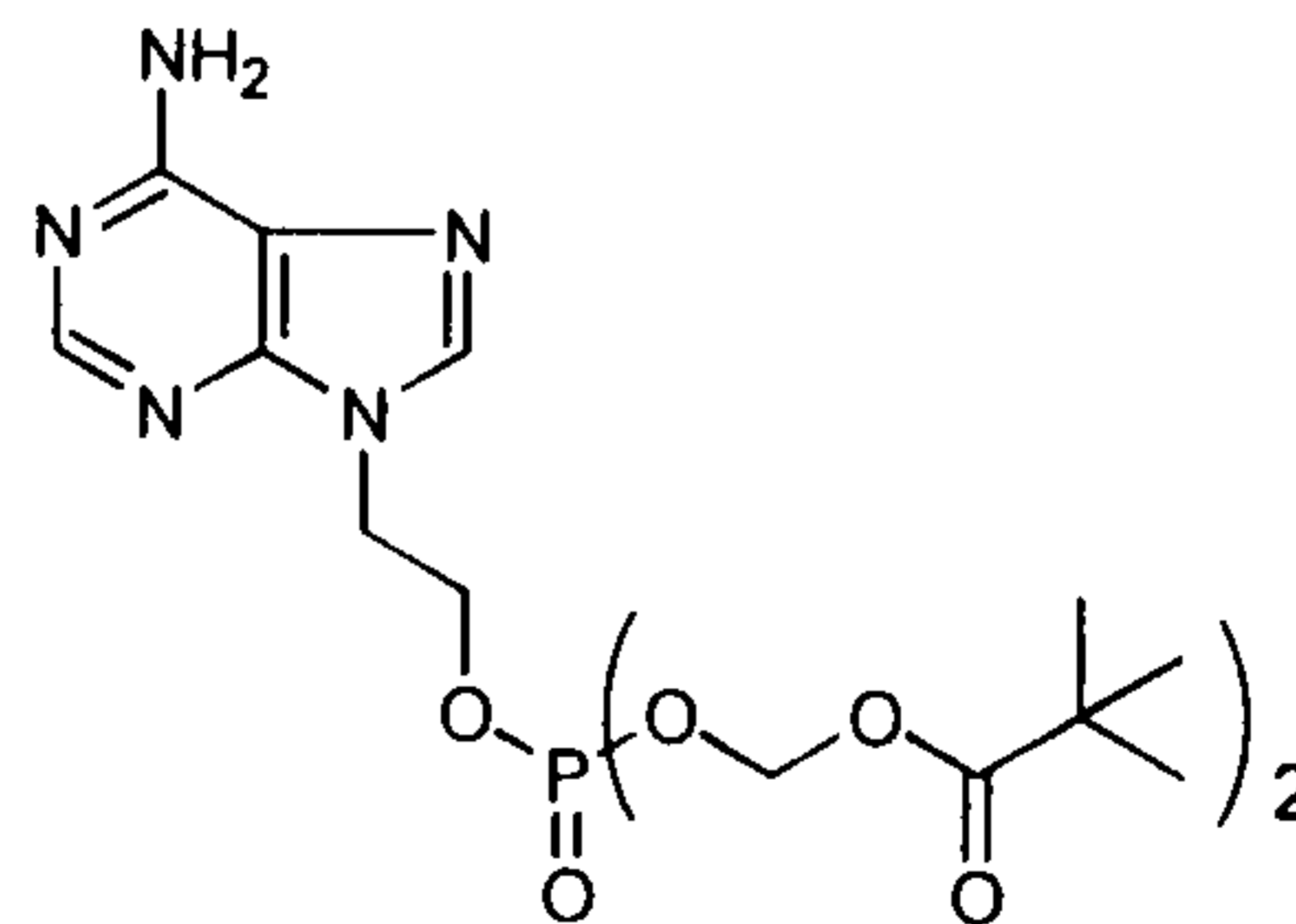
CDIMI



PNU-142721



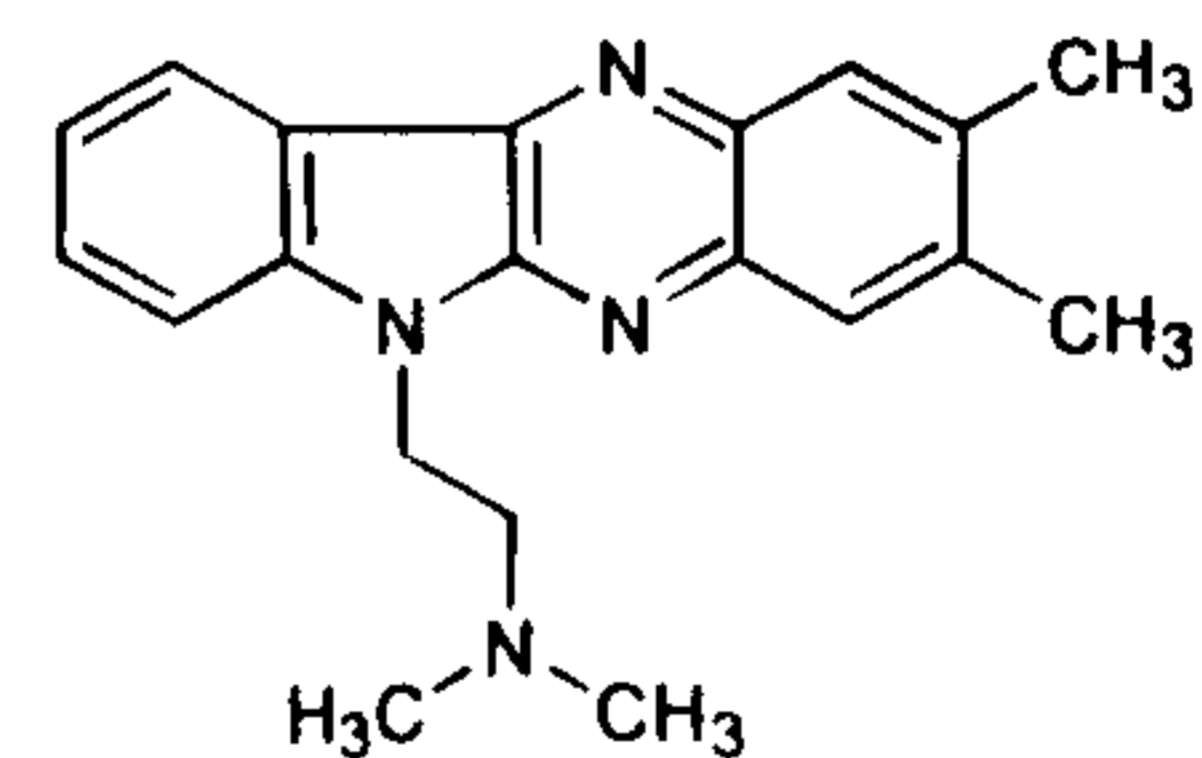
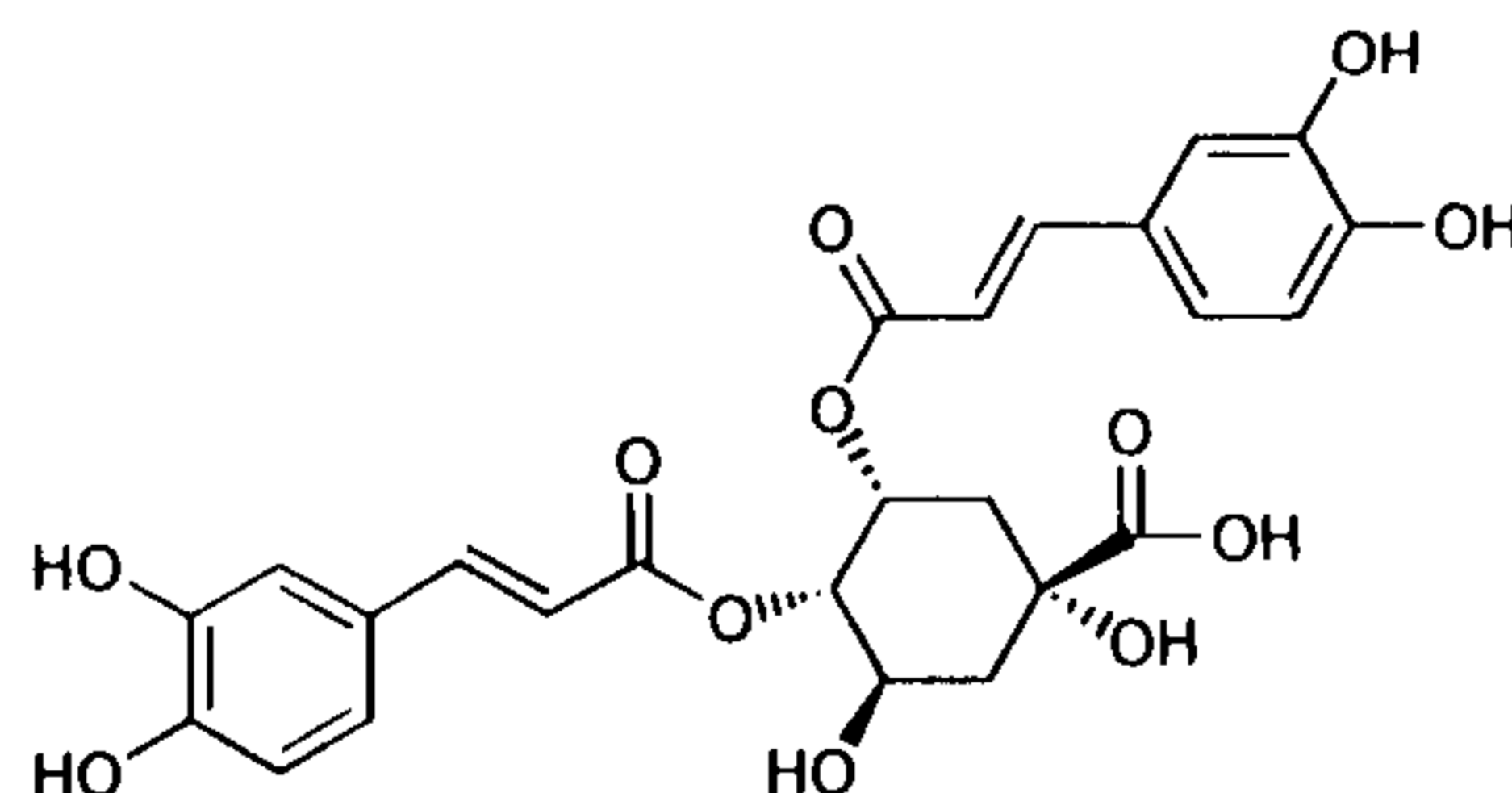
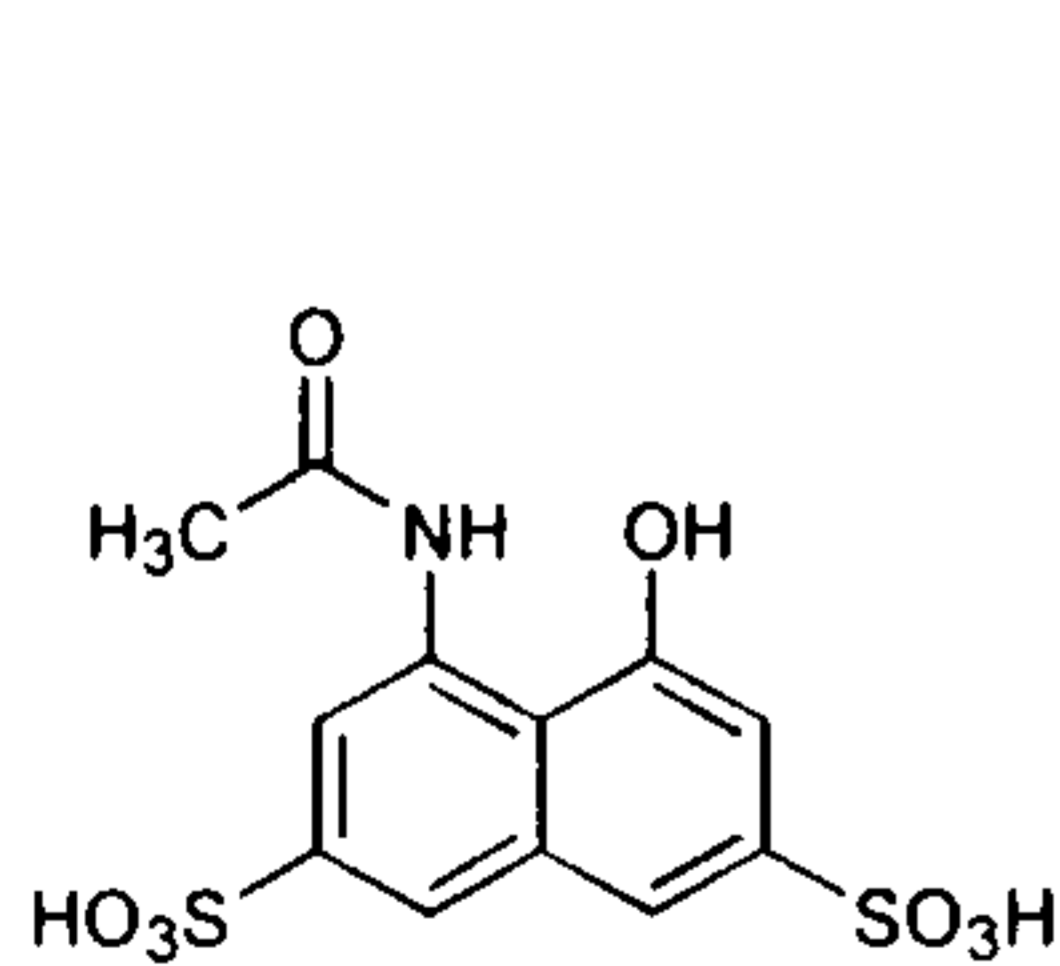
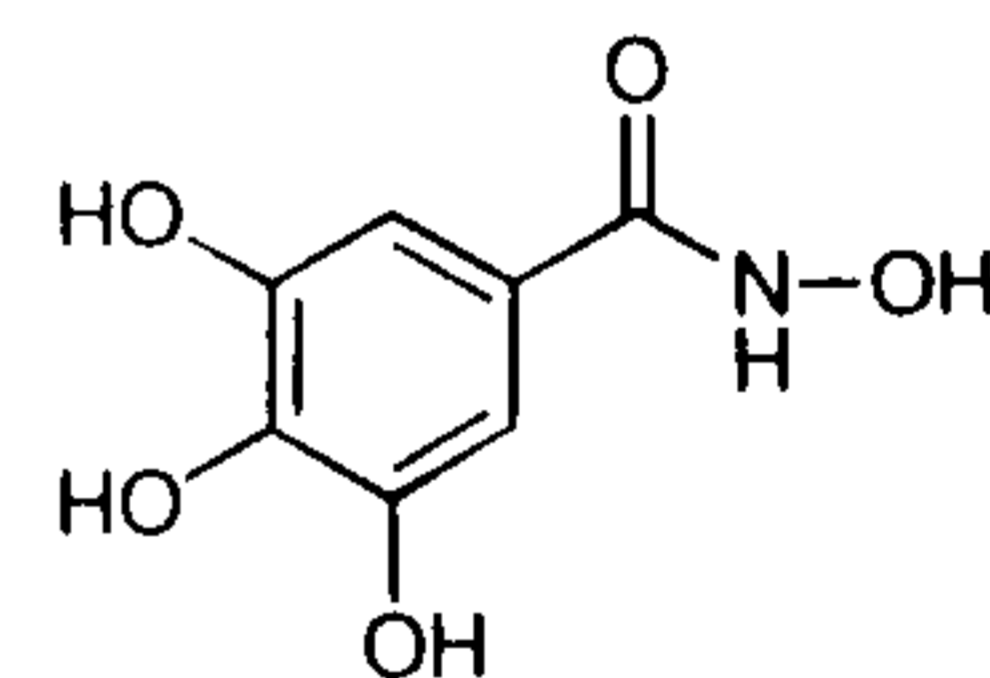
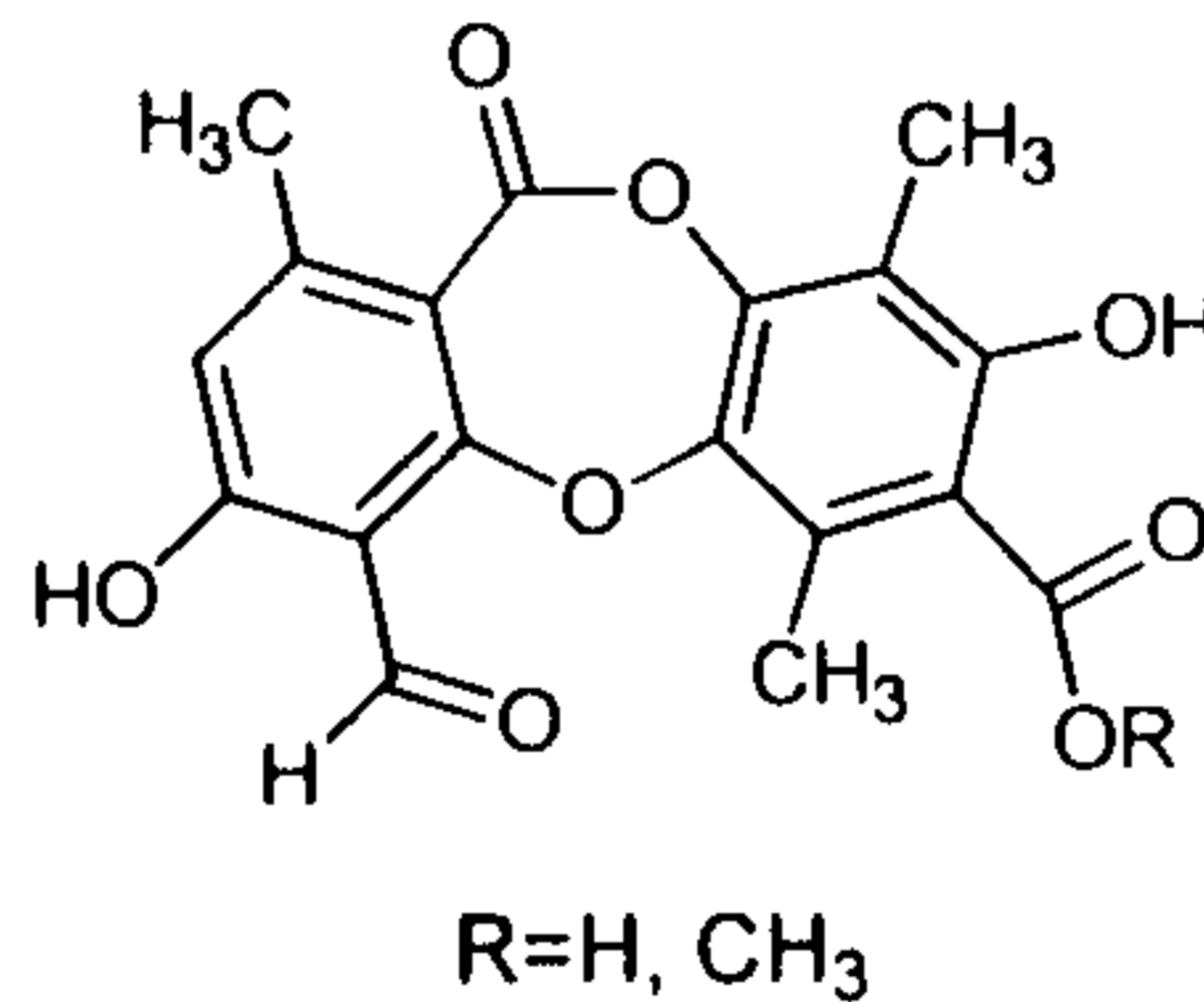
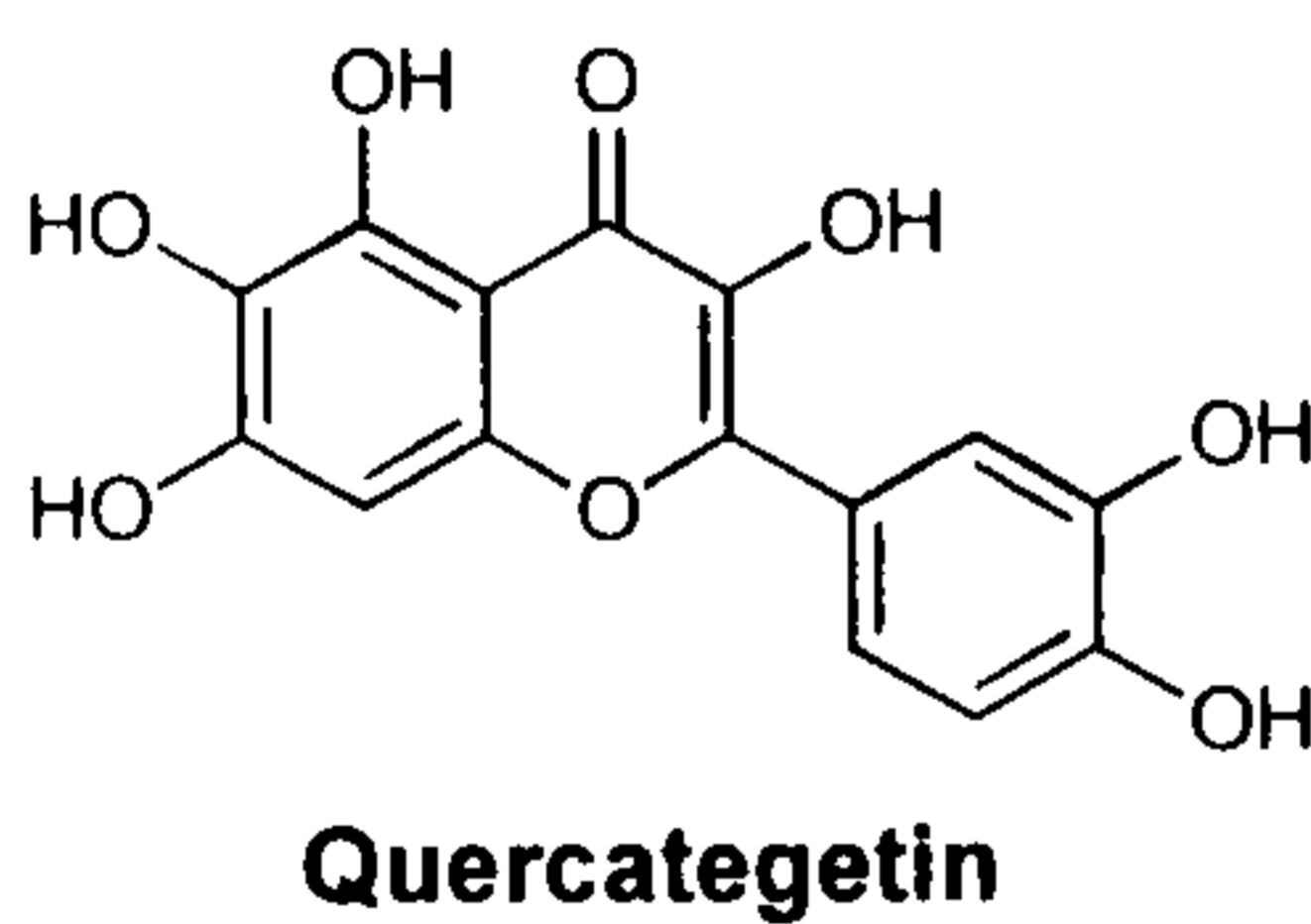
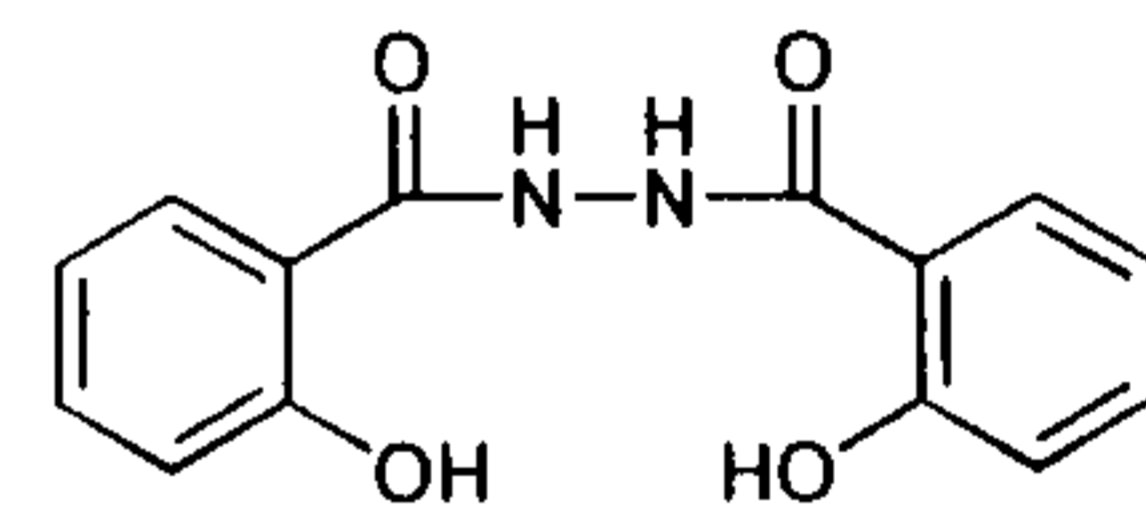
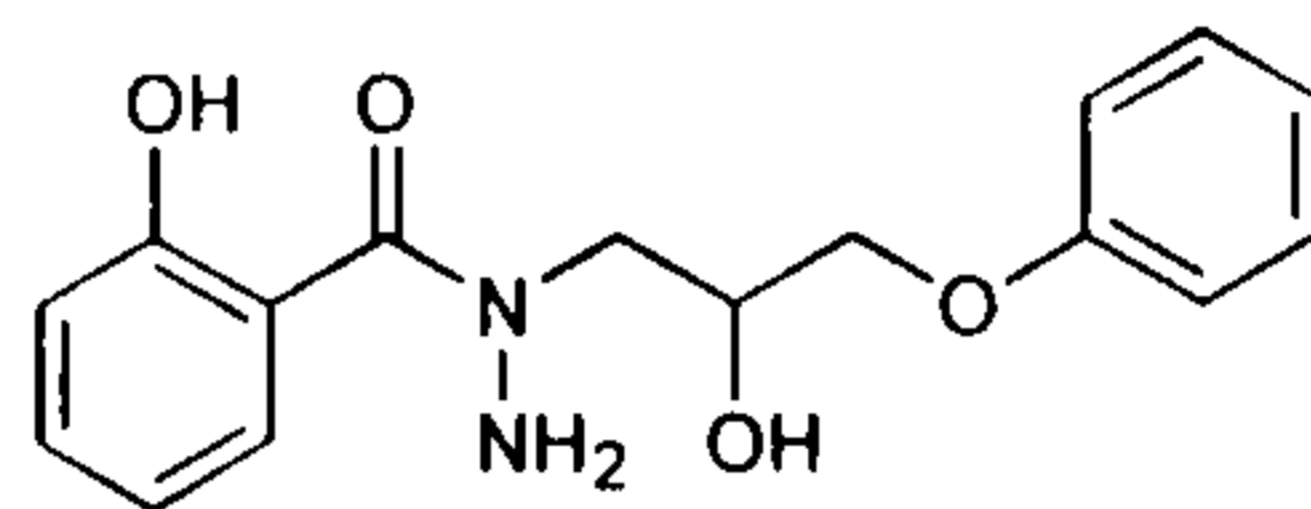
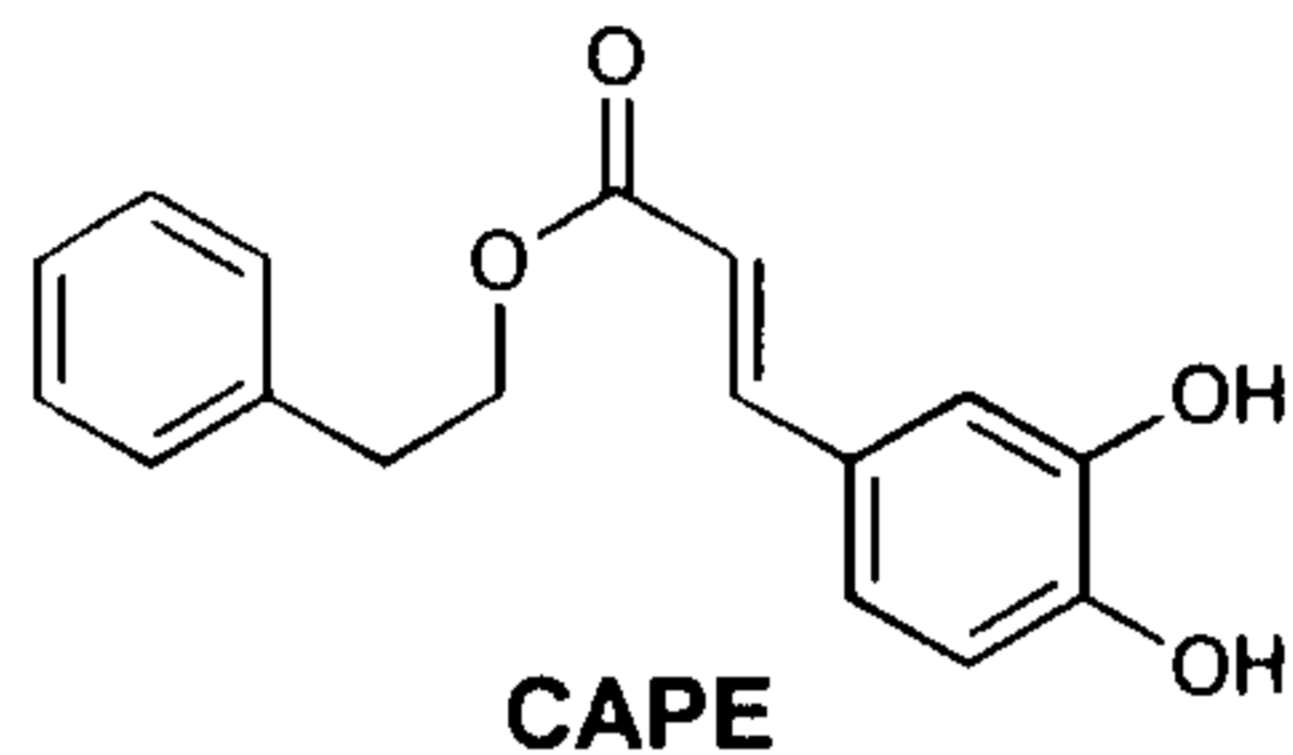
**1592U89
Abacavir
Phase III**

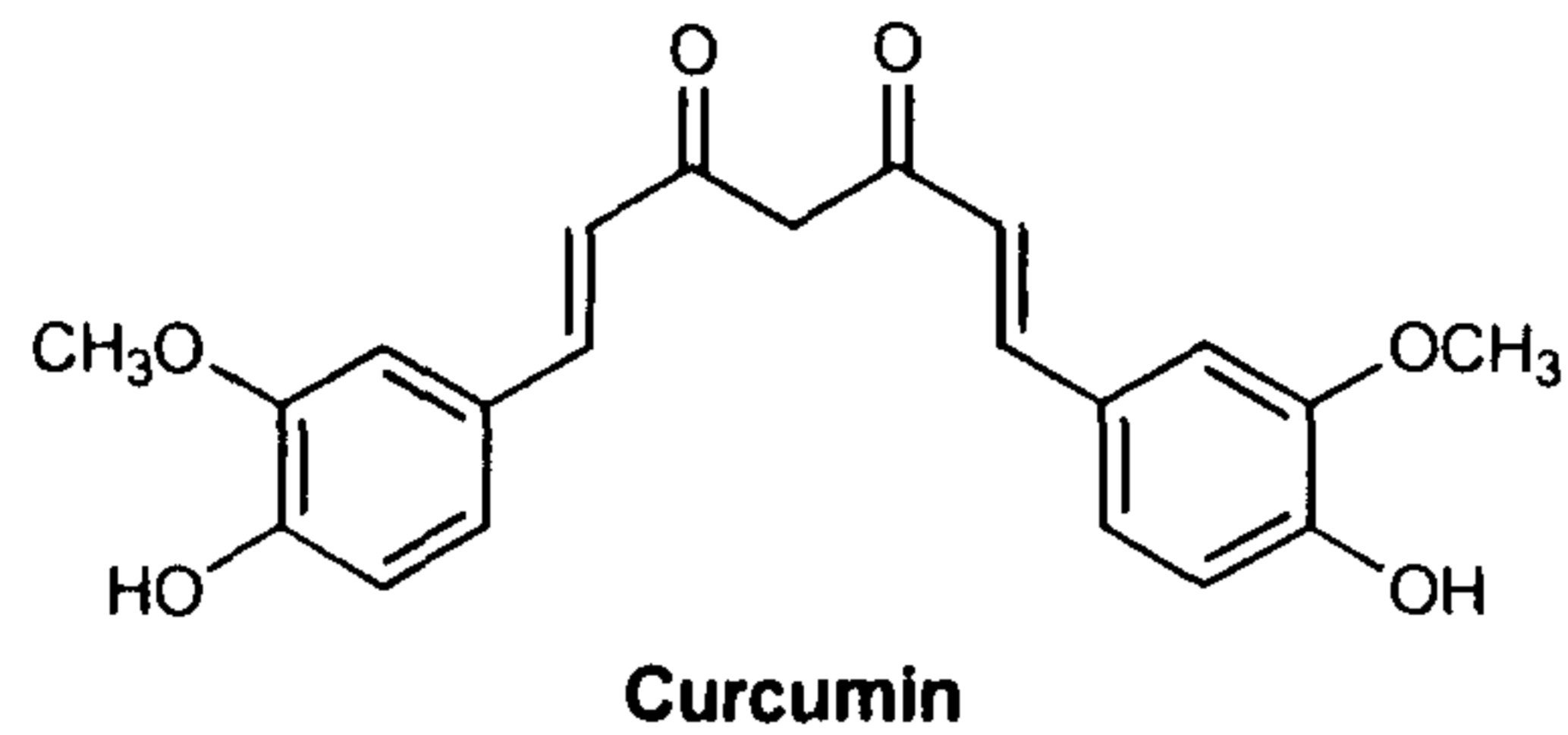


**Bis(POM)PMEA
Phase III**

5. Proviral DNA integration

RT에 의해 HIV의 RNA로부터 합성된 HIV의 DNA가 host cell인 T4세포의 DNA에 끼어들어가는 과정으로서 Integrase로 불리는 효소가 중요한 역할을 담당하는 것으로 알려져 있다. 따라서, integrase를 중심으로 저해제 연구가 활발해졌으며 대표적인 효소저해제를 요약하면 다음과 같다.⁴⁻⁶⁾



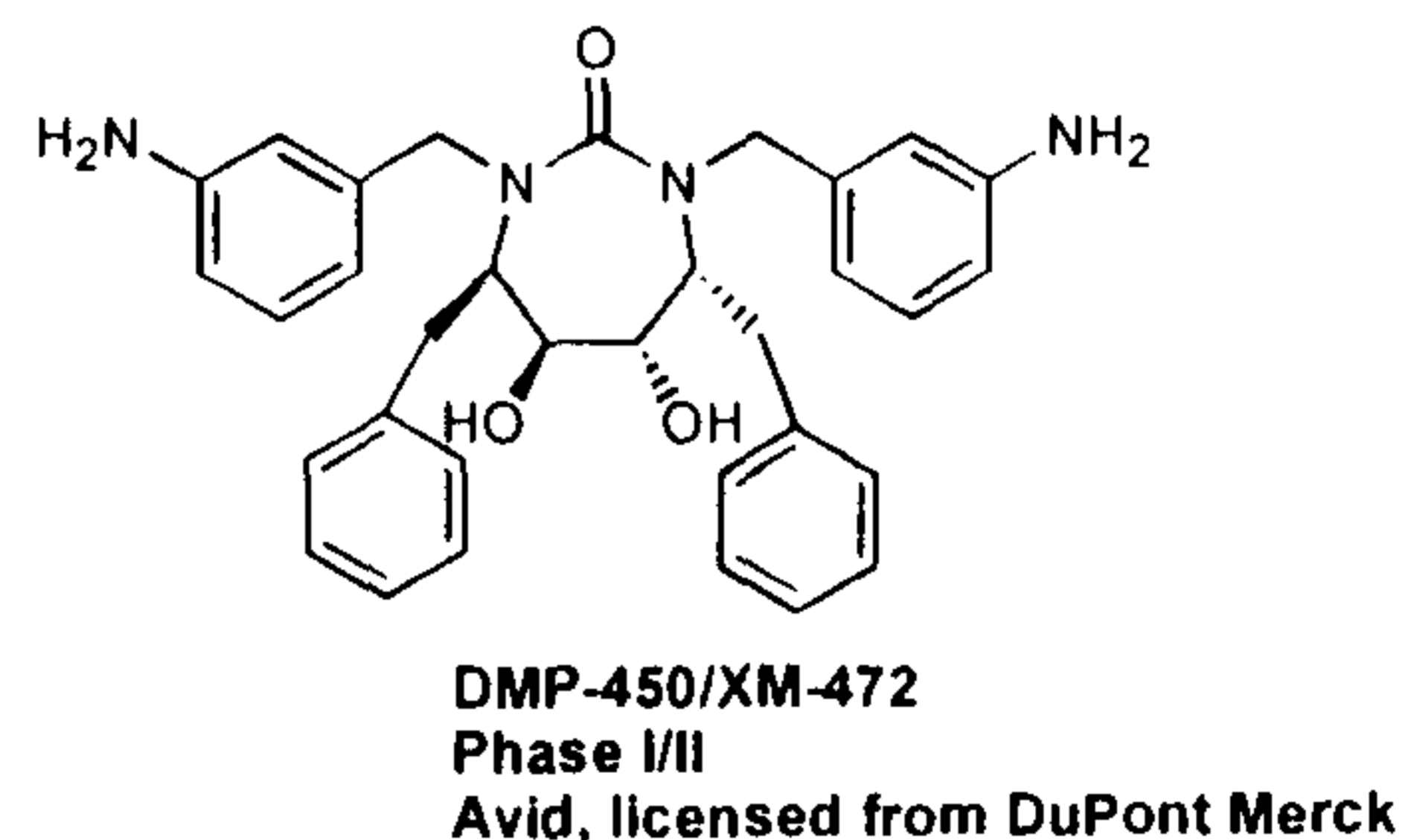
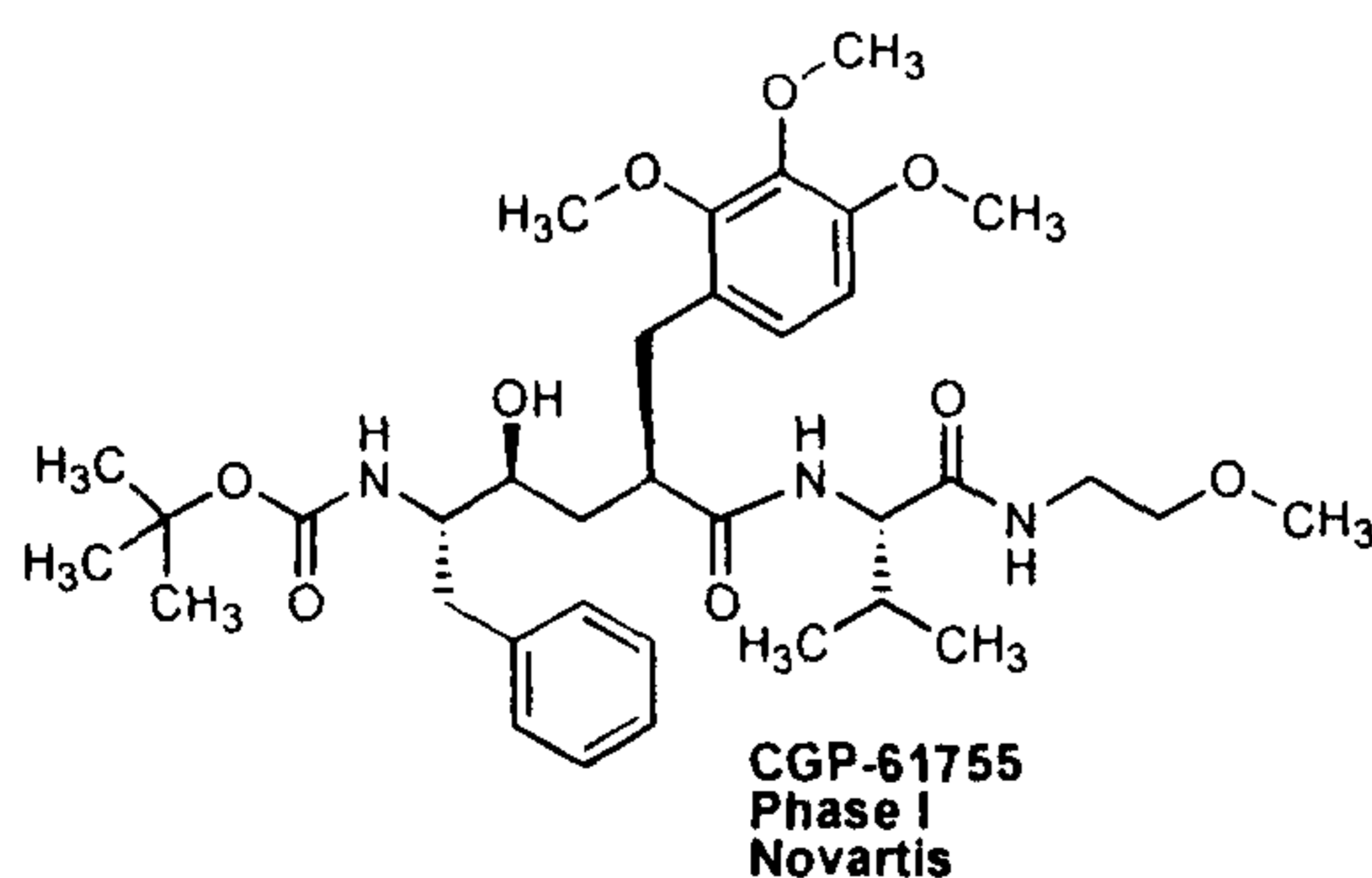


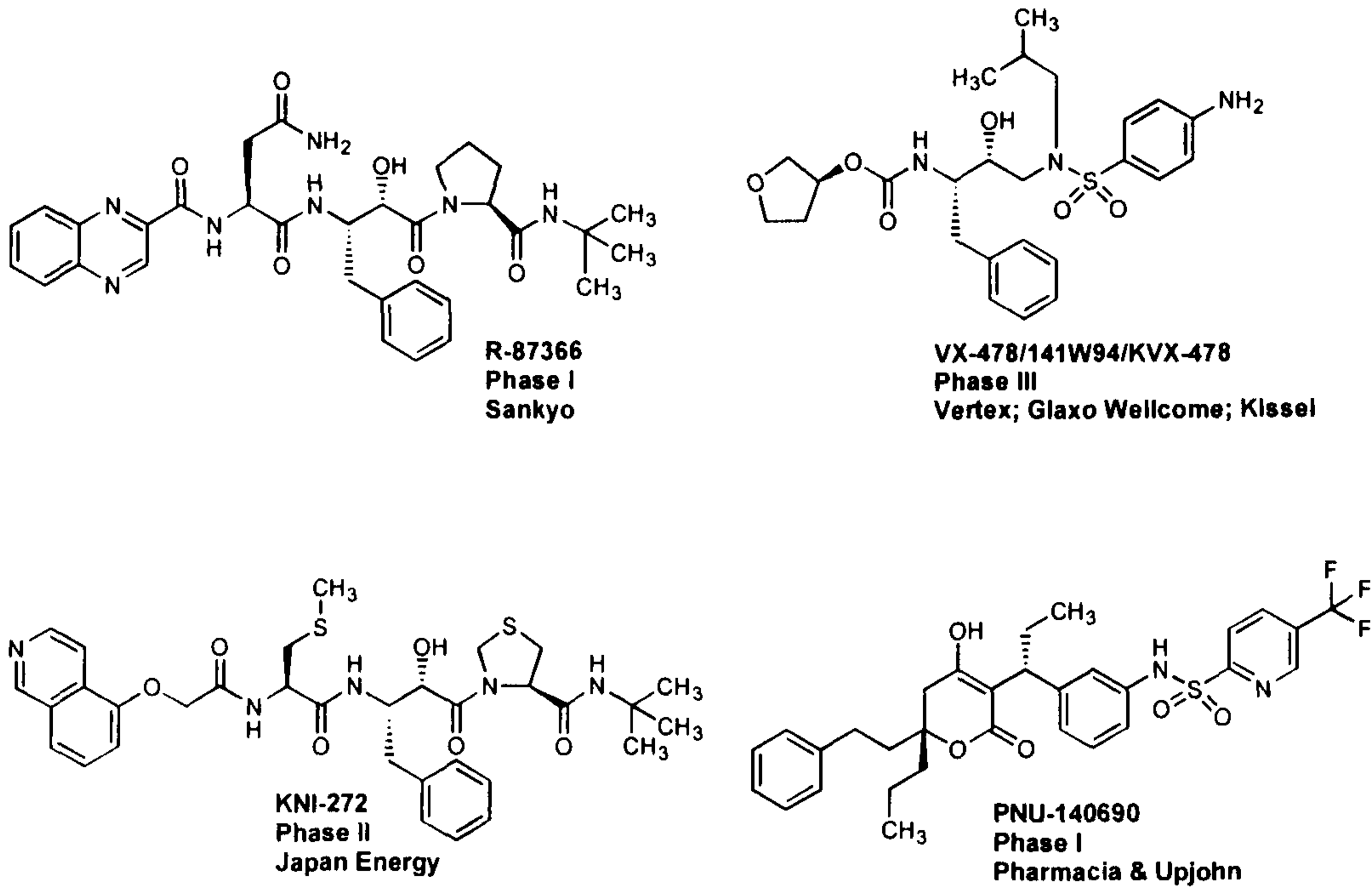
6. Proviral DNA transcriptase to m-RNA and Viral m-RNA translation

antisense oligonucleotide 등의 화합물들이 연구되고 있으나 이 단계의 과정은 매우 복잡하여 더 자세한 연구를 필요로 한다.

7. Viral Protein maturation

HIV가 필요로 하는 각종 단백질을 합성하는 단계로서 여러 가지 효소들이 관여하고 있으나 가장 중추적 역할을 하는 효소는 단백질 분해효소인 Protease이다. 따라서, protease가 분리 정제되고 구조가 규명됨에 따라 저해제 연구가 활발히 진행되어 서론에 언급한 바와 같은 4가지 화합물이 AIDS 치료제로 FDA의 승인을 얻었으며 그밖에 다음과 같은 화합물들이 뒤를 이어 연구되고 있다.⁷⁾





8. Virus budding(release)

이 단계의 연구는 아직 성과가 미흡하다.

본 절에서는 살펴본 바와 같이 AIDS 치료제 개발을 위하여 많은 종류의 연구가 진행되고 있음에도 불구하고 HIV의 감염자로부터 HIV를 완전히 제거한다는 것은 HIV의 life cycle(HIV는 숙주세포의 DNA에 잠복함)로 미루어볼 때에 이론적으로나 현실적으로 불가능하다. 따라서 AIDS 치료제라는 것은 감염자로부터 HIV의 증식을 최대한 억제한다는 것을 의미하며 이러한 목적을 달성하기 위하여 현재의 치료제 이외에도 최적의 화학요법제 개발이 지속적으로 요구된다.

나. 국내의 경우

아직 신약개발의 사례는 없으나 HIV에 대한 screening 시설이 화학연구소 및 국립보건원에 갖추어져있고 삼천리제약(주)은 AZT의 전구물질인 Thymidine을 수출하고 있으며 부광약품에서는 B형 간염후보물질인 L-FMAU를 미국에 licence out한 바 있고 LG화학에서는 HIV protease inhibitor를 집중적으로 연구중에 있고 그 밖의 여러 제약사에서도 HIV뿐만 아니라 다른 바이러스의 치료제 연구에도 관심을 가지고 연구중에 있다.

다. 향후전망

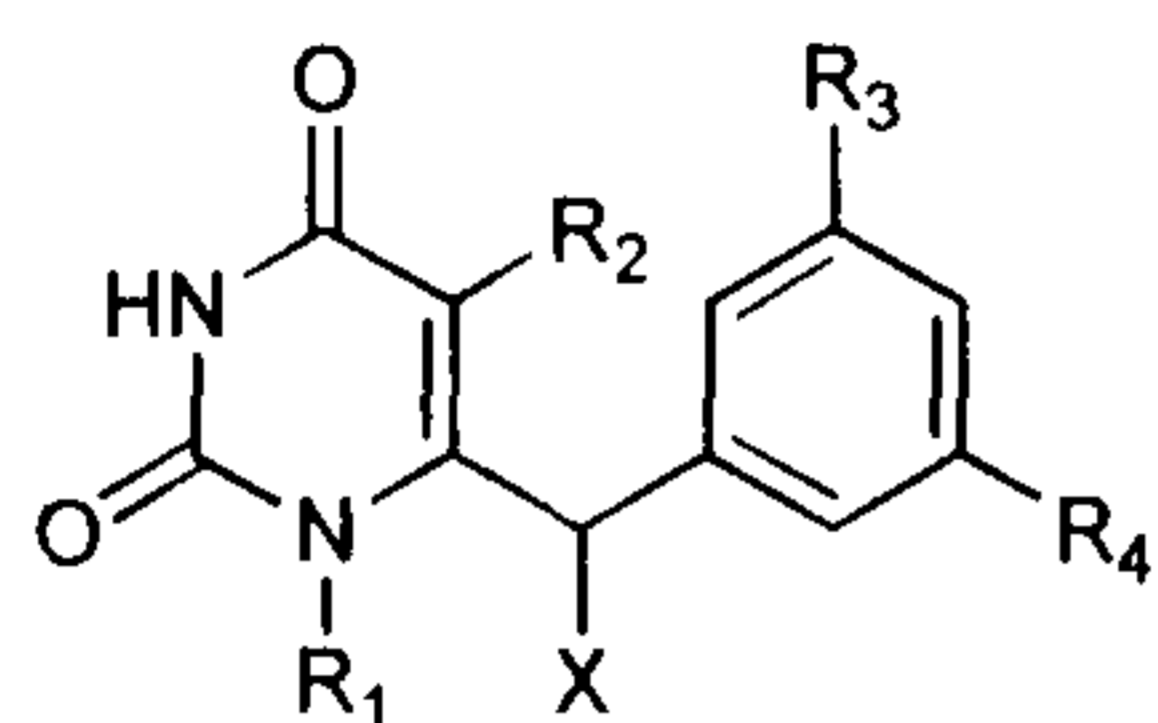
현재 바이러스성질환치료제의 전세계 시장규모는 약 50억달러 정도에 이르고 이중에서 AIDS치료제 시장은 약 20억달러에 이르는 데 2000년대에 이르면 약 200억달러 정도의 전세계시장을 형성할 것으로 전망되고 있으며, 앞으로 AIDS치료제 연구는 기존화학요법에 내성을 가진 HIV의 퇴치에 초점이 맞추어질 전망이다.

제 3장 연구개발 수행내용 및 결과

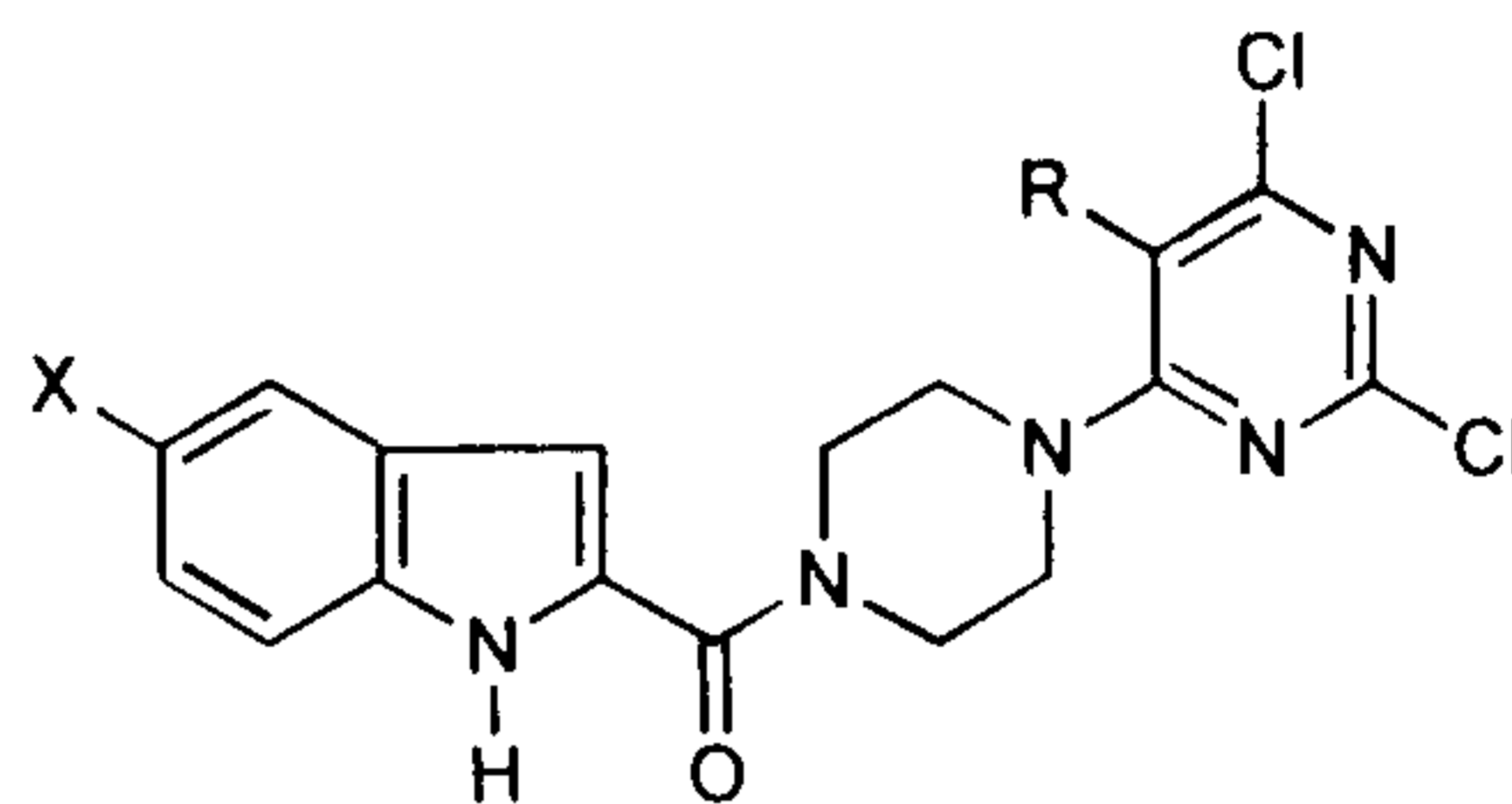
제 1절 연구내용

전년도에 이어서 HIV에 활성을 가진 새로운 화합물을 발굴하기

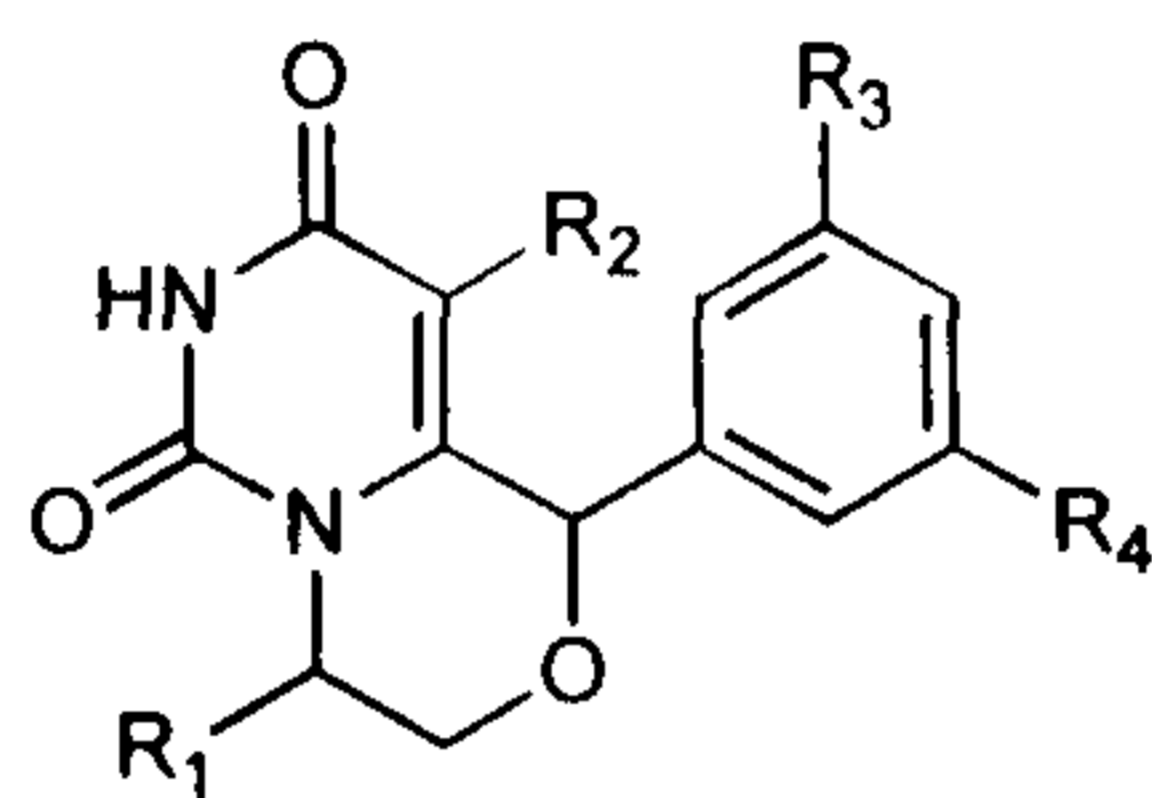
위하여 하기의 일반식(I), 일반식(II) 및 일반식(III)과 같은 화합물에 대한 연구를 계속하였다.



일반식 (I)



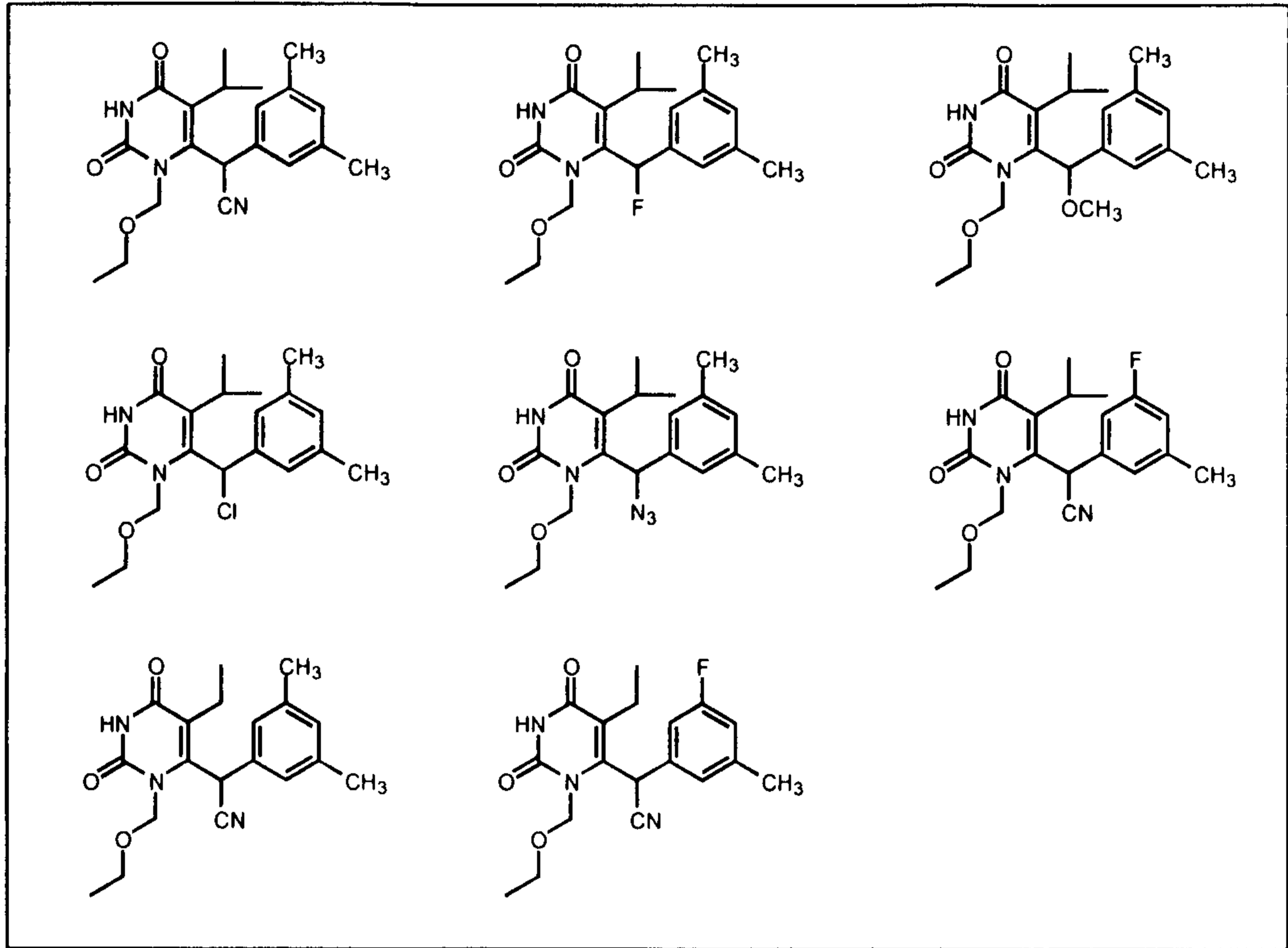
일반식 (II)



일반식 (III)

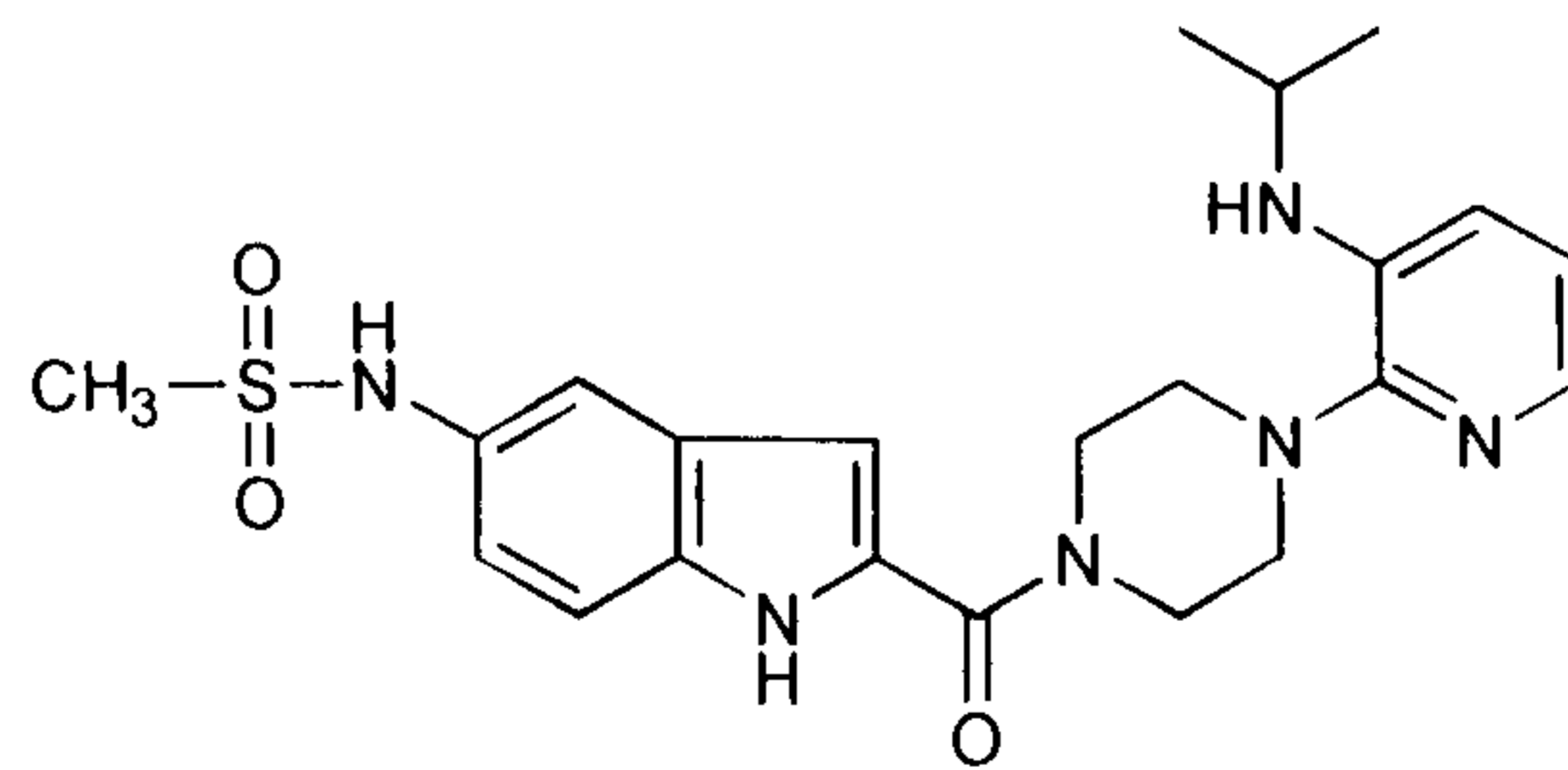
가. 일반식(I)의 화합물

전년도 연구에서 하기와 같은 8가지 화합물들을 합성한 바 있는데 이계열화합물들은 HIV에 활성을 가졌으므로 국내 특허출원 하였다.



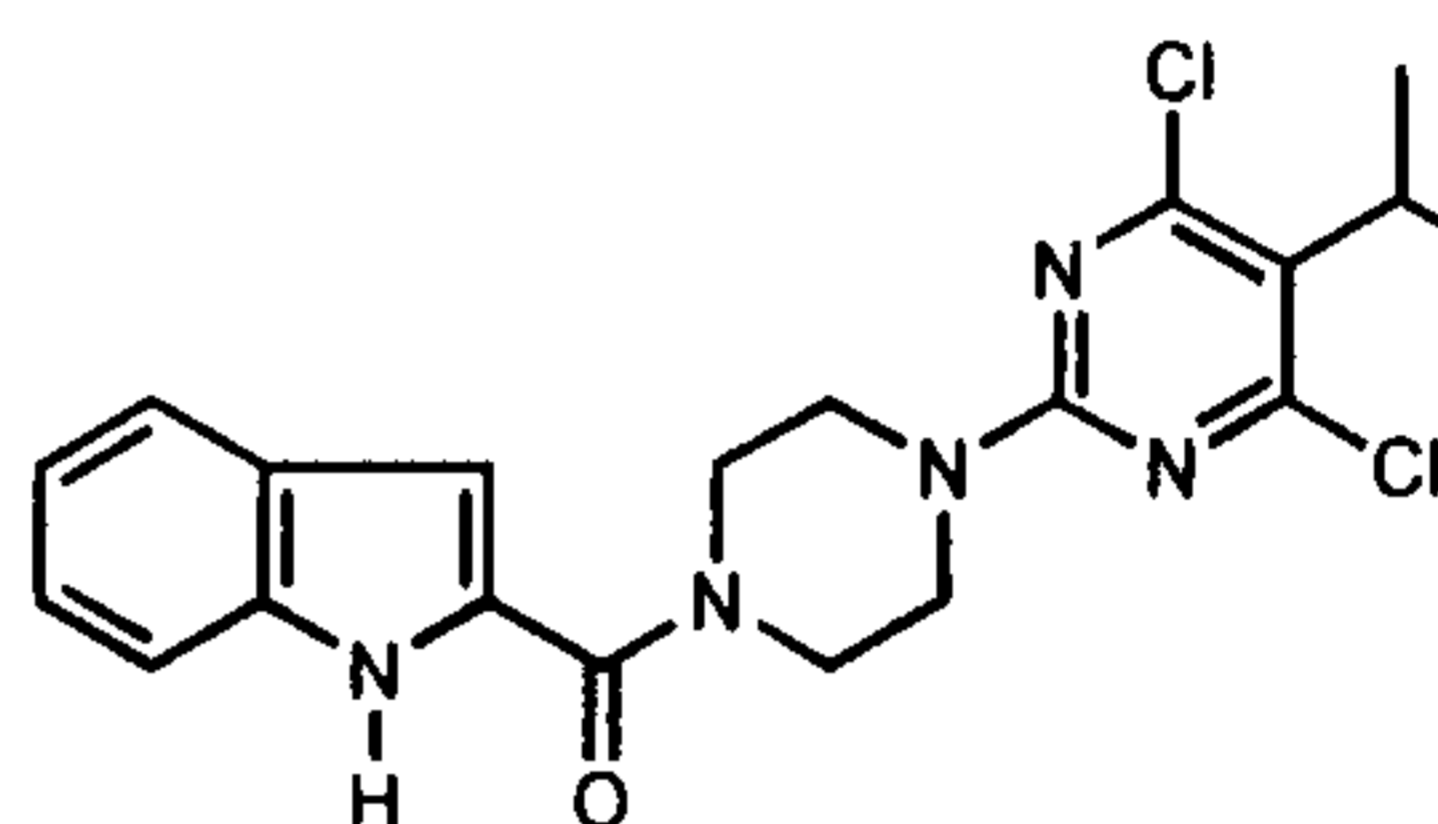
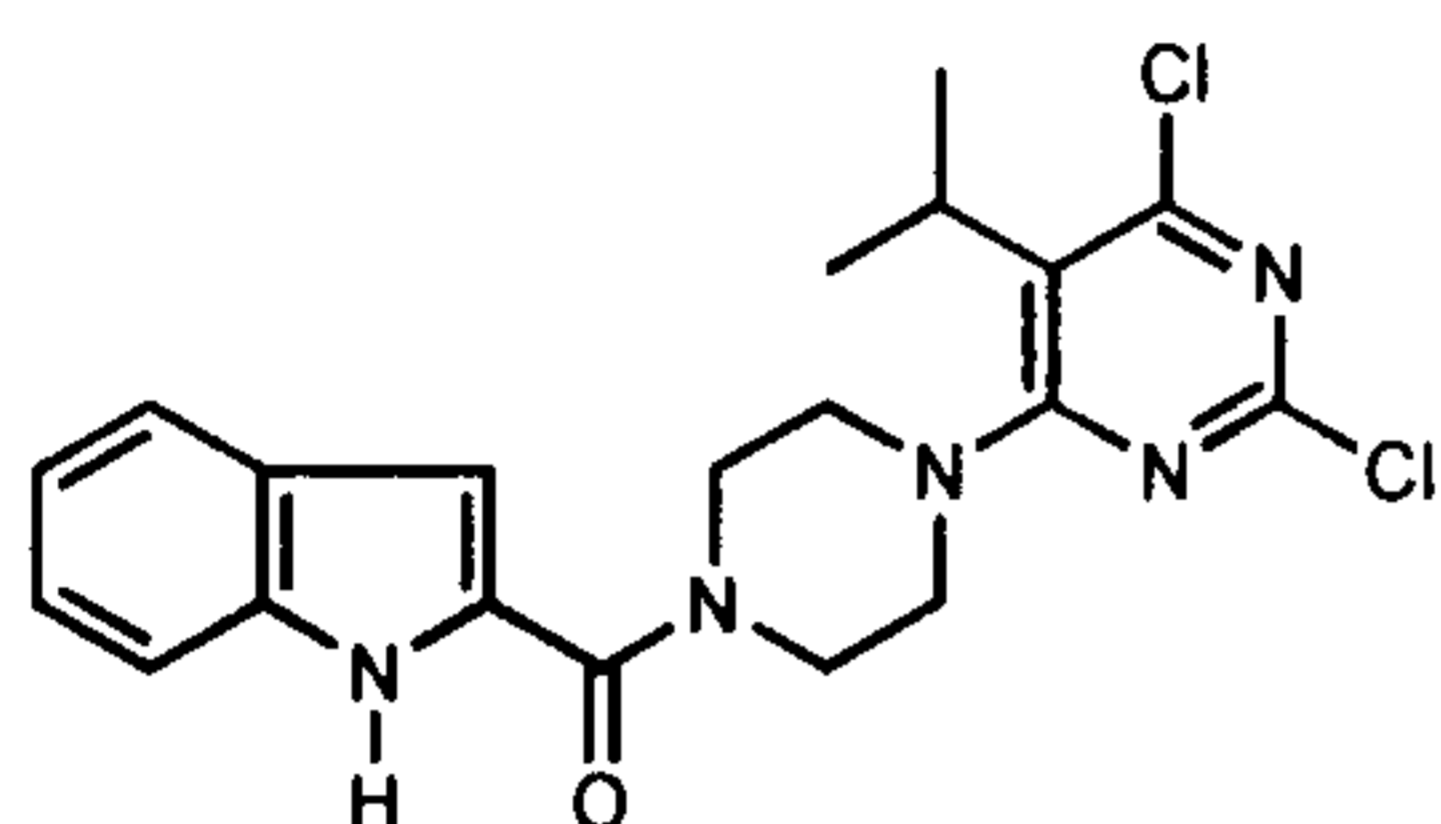
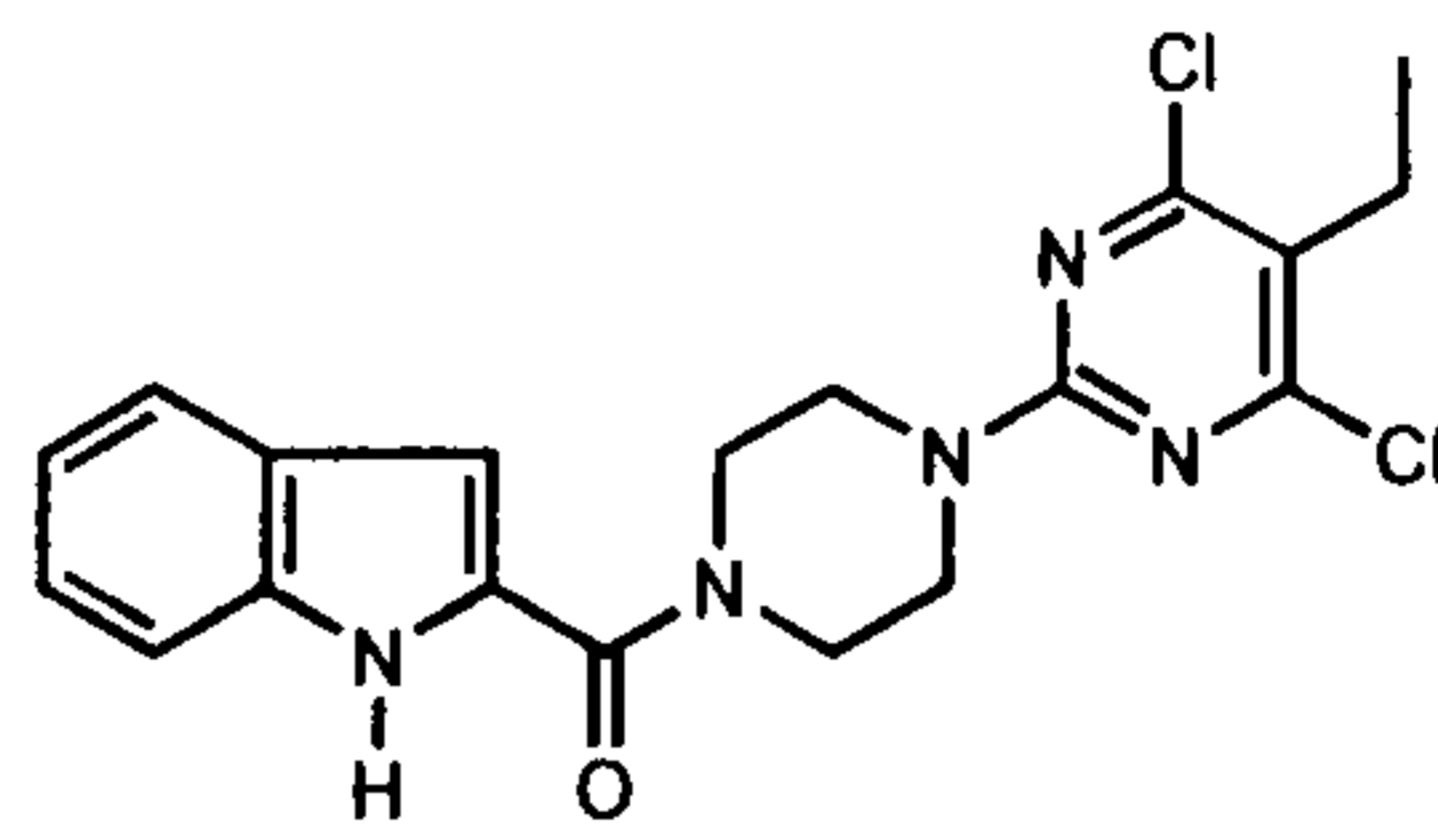
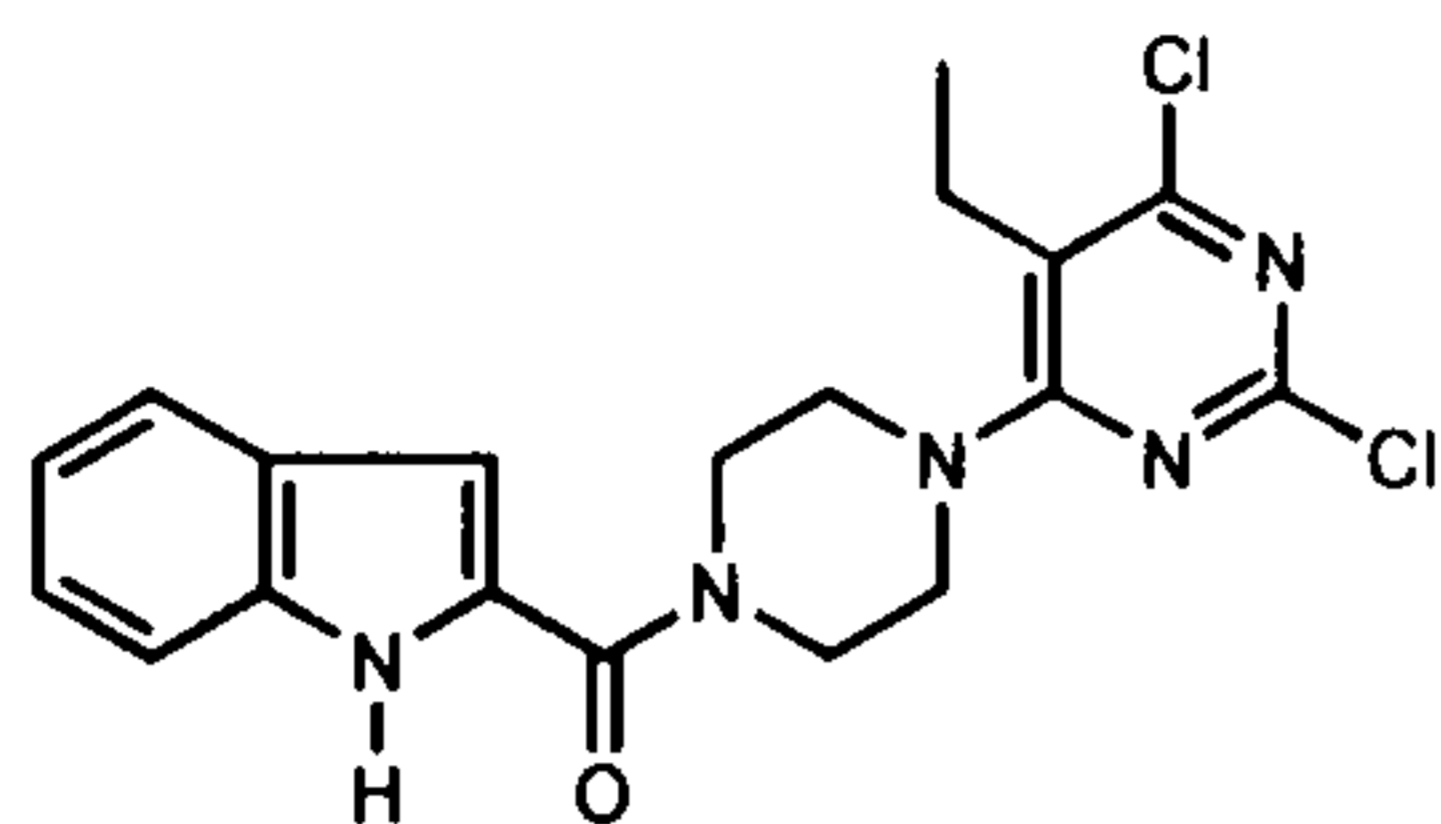
나. 일반식(II)의 화합물

전년도에 개발한 합성법을 이용하여 AIDS치료제인 Delavirdine과 유사한 하기와 같은 6가지의 화합물을 합성하였다.⁸⁻¹⁰⁾

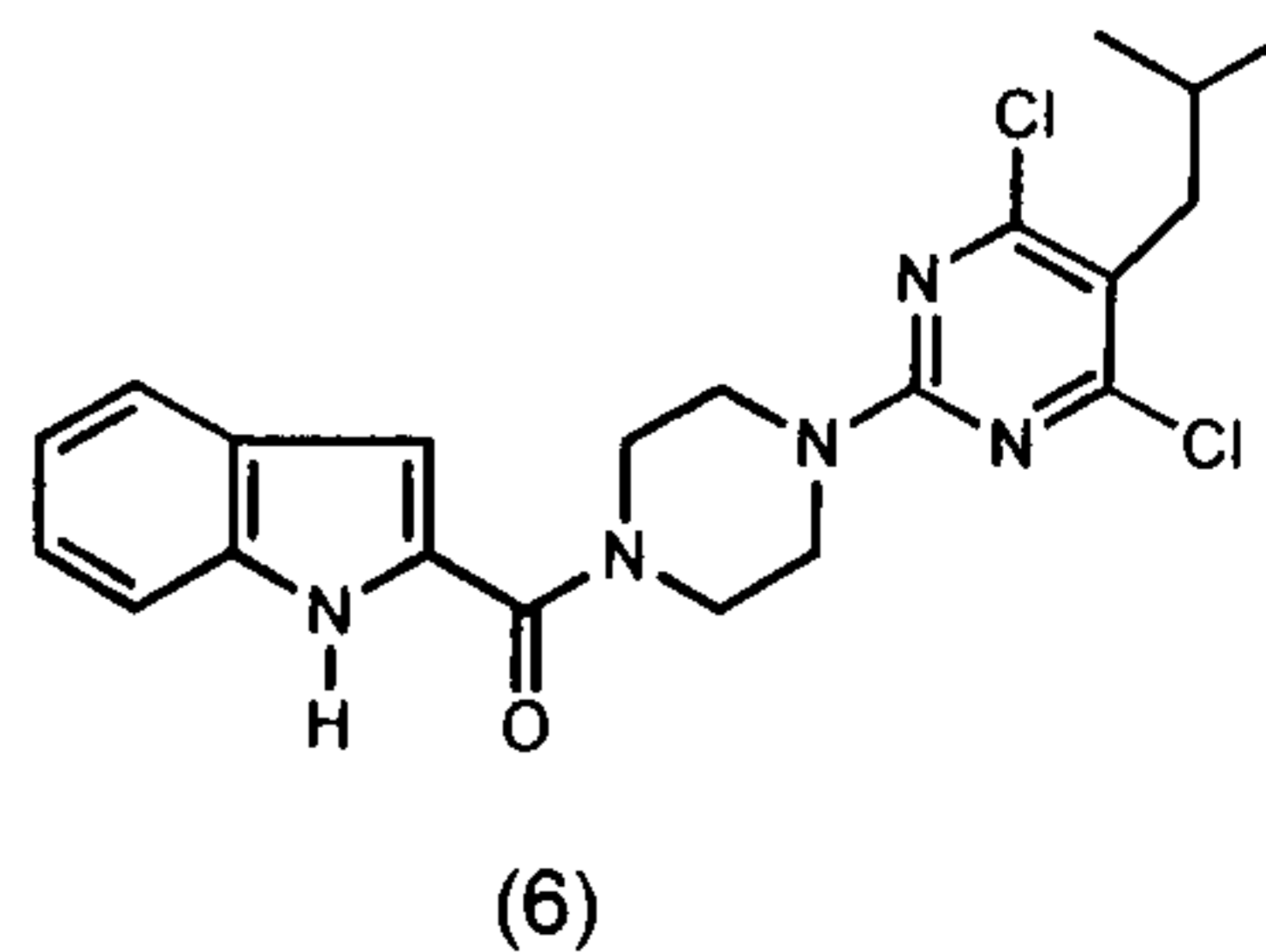
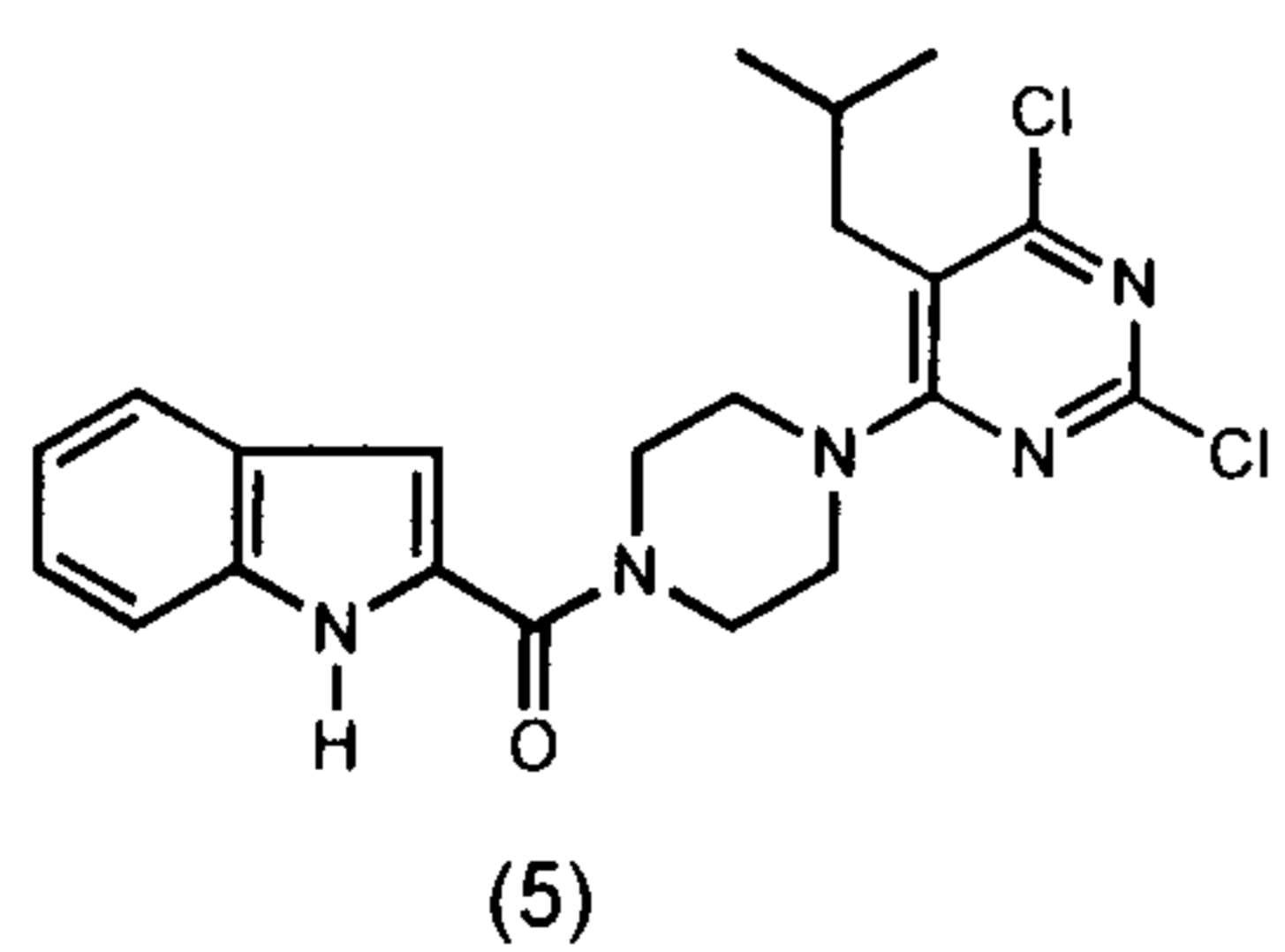
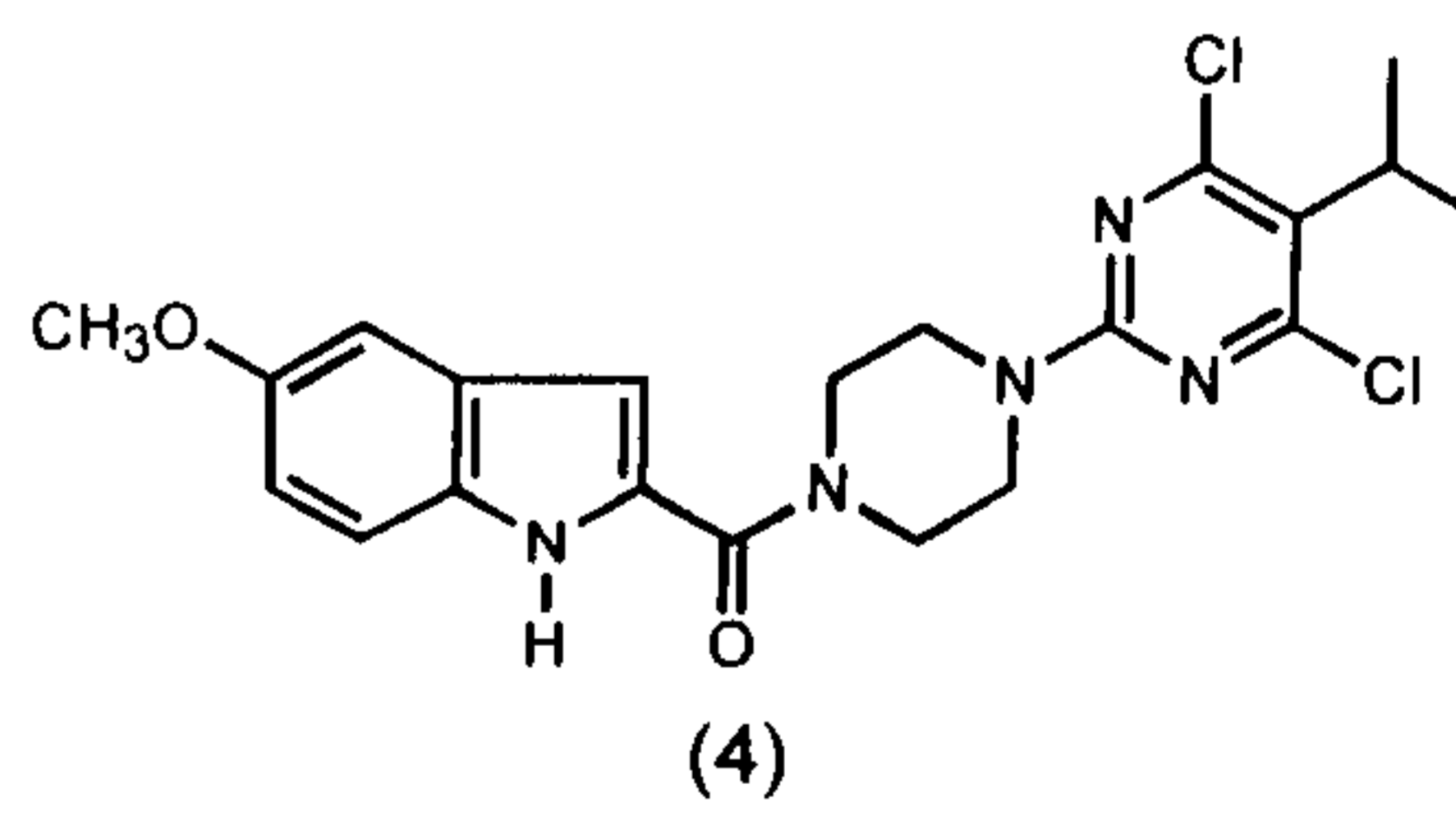
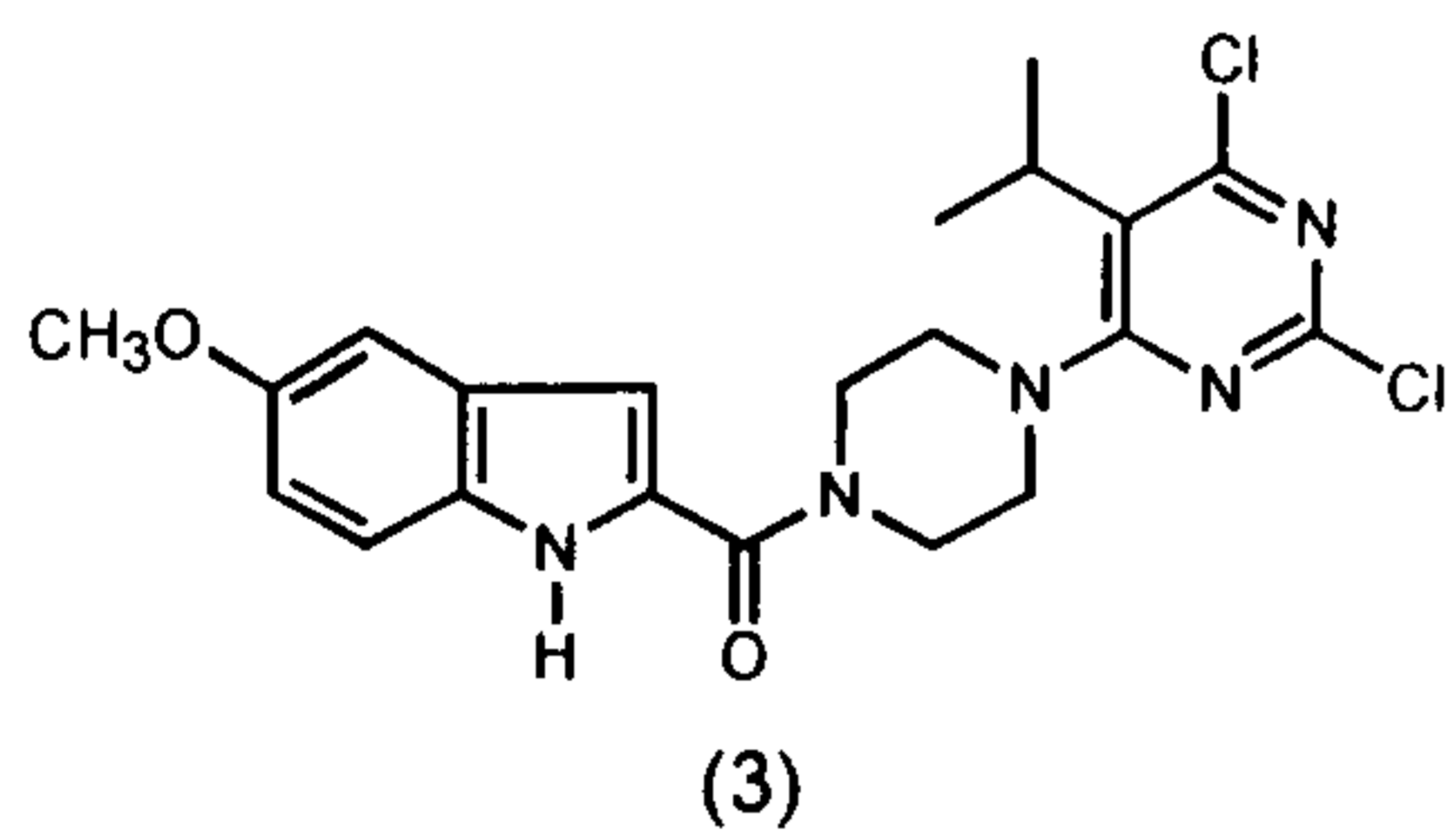
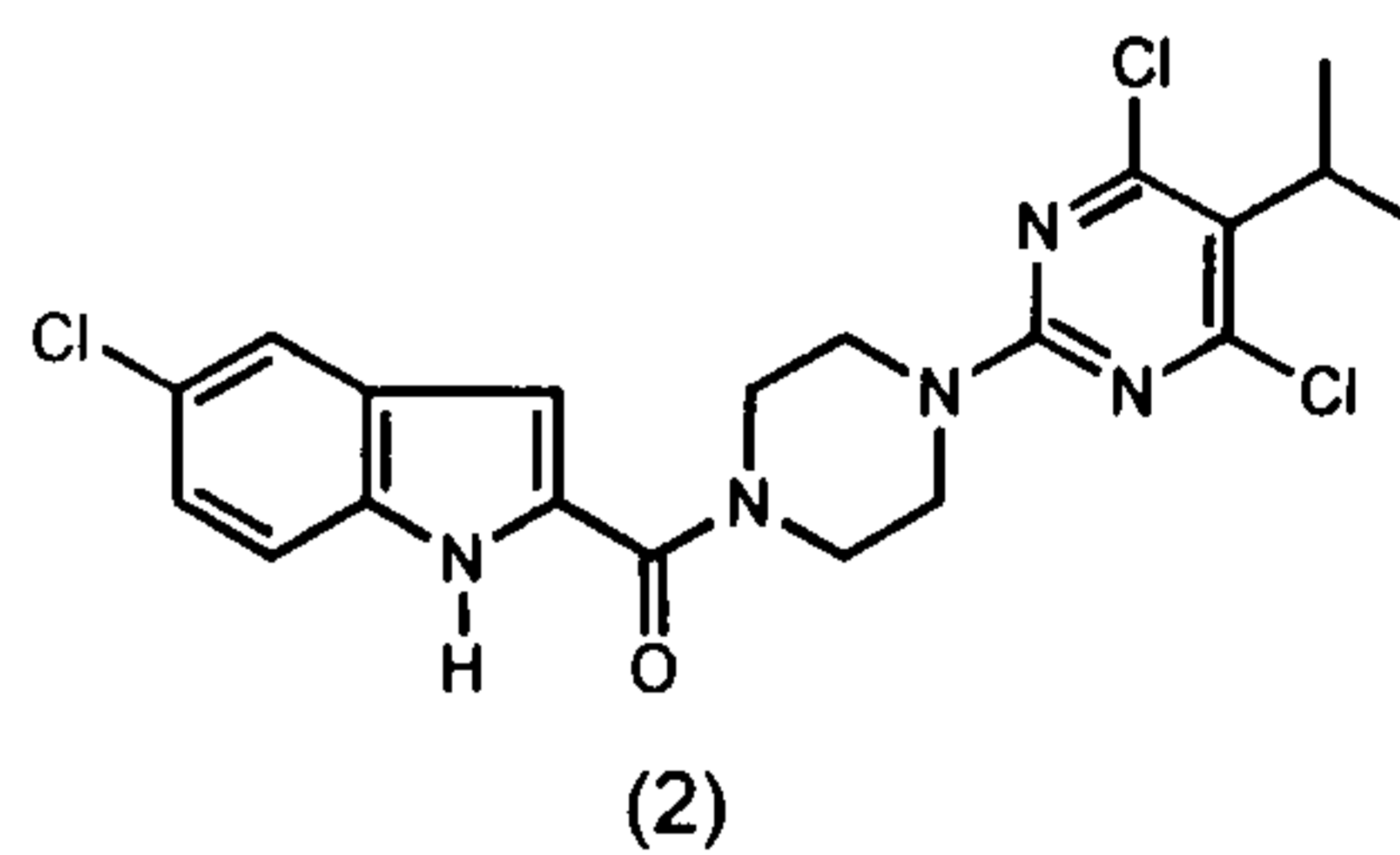
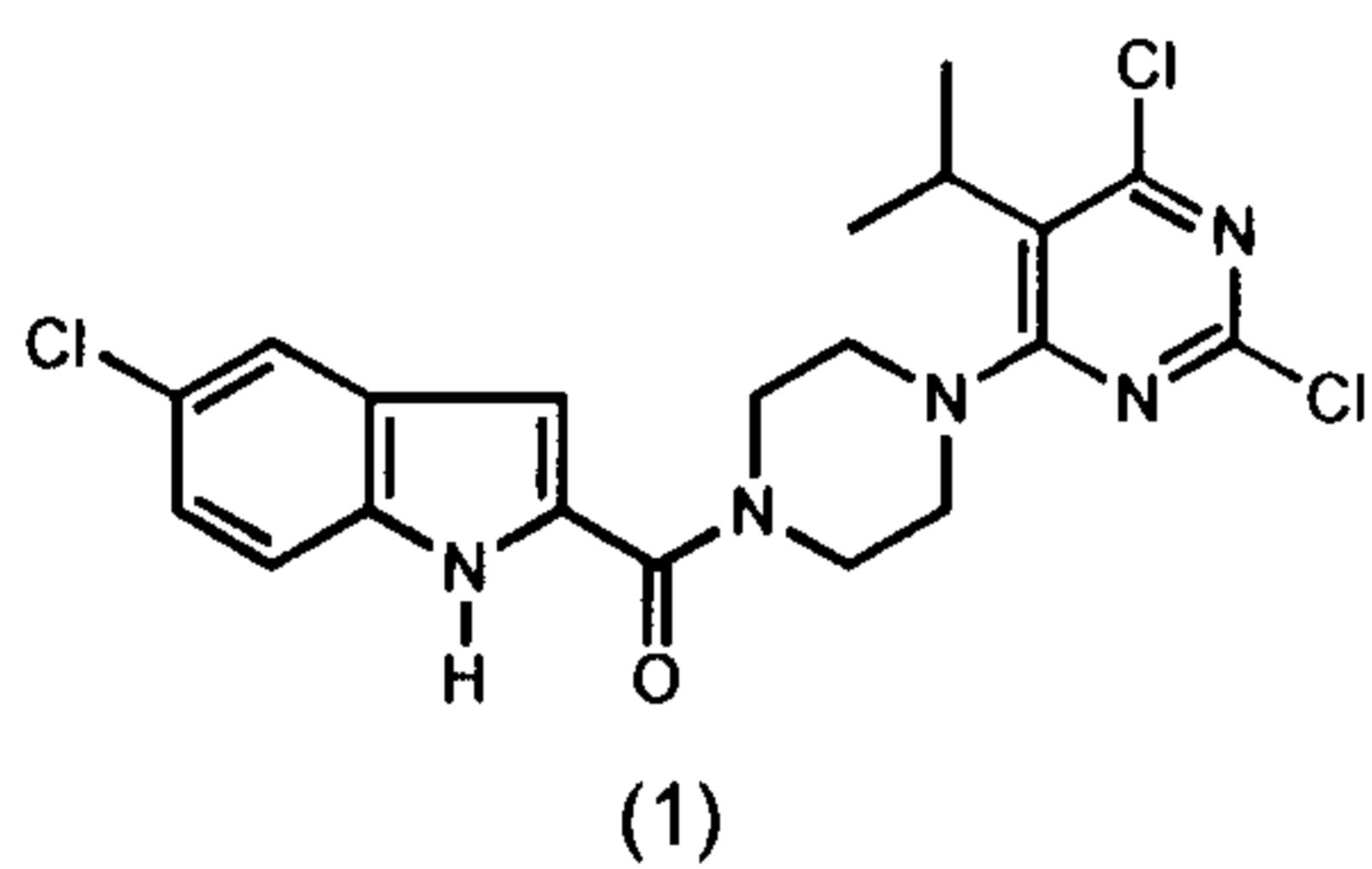


Delavirdine

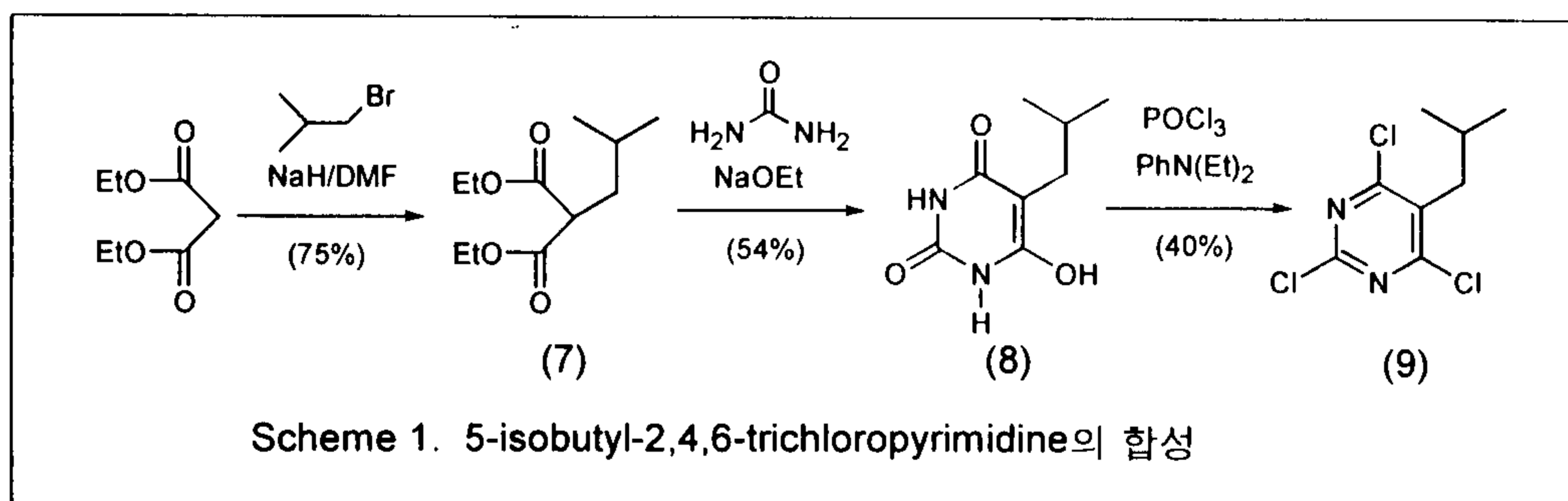
(전년도에 합성된 화합물)

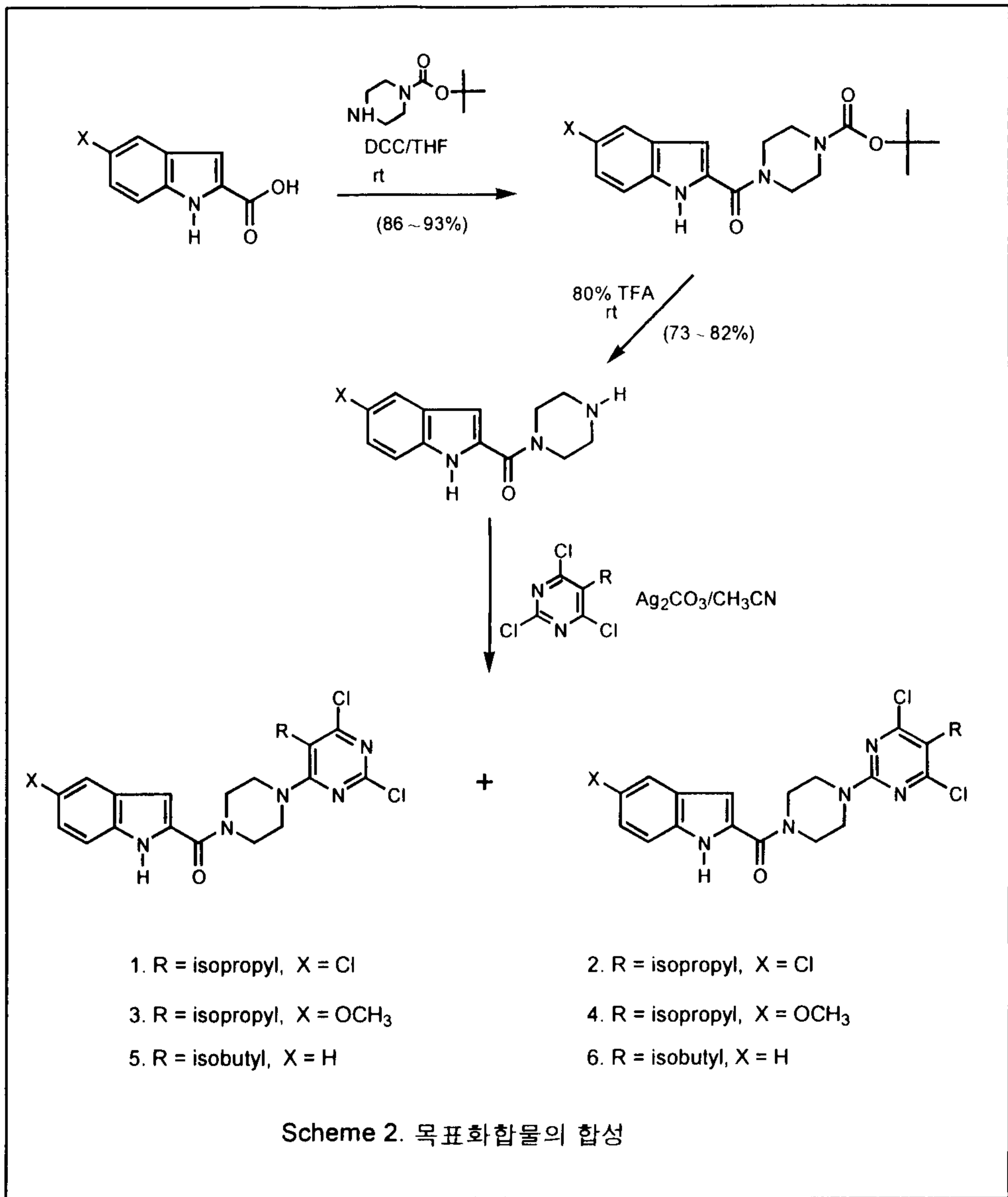


(금년도에 합성된 화합물)

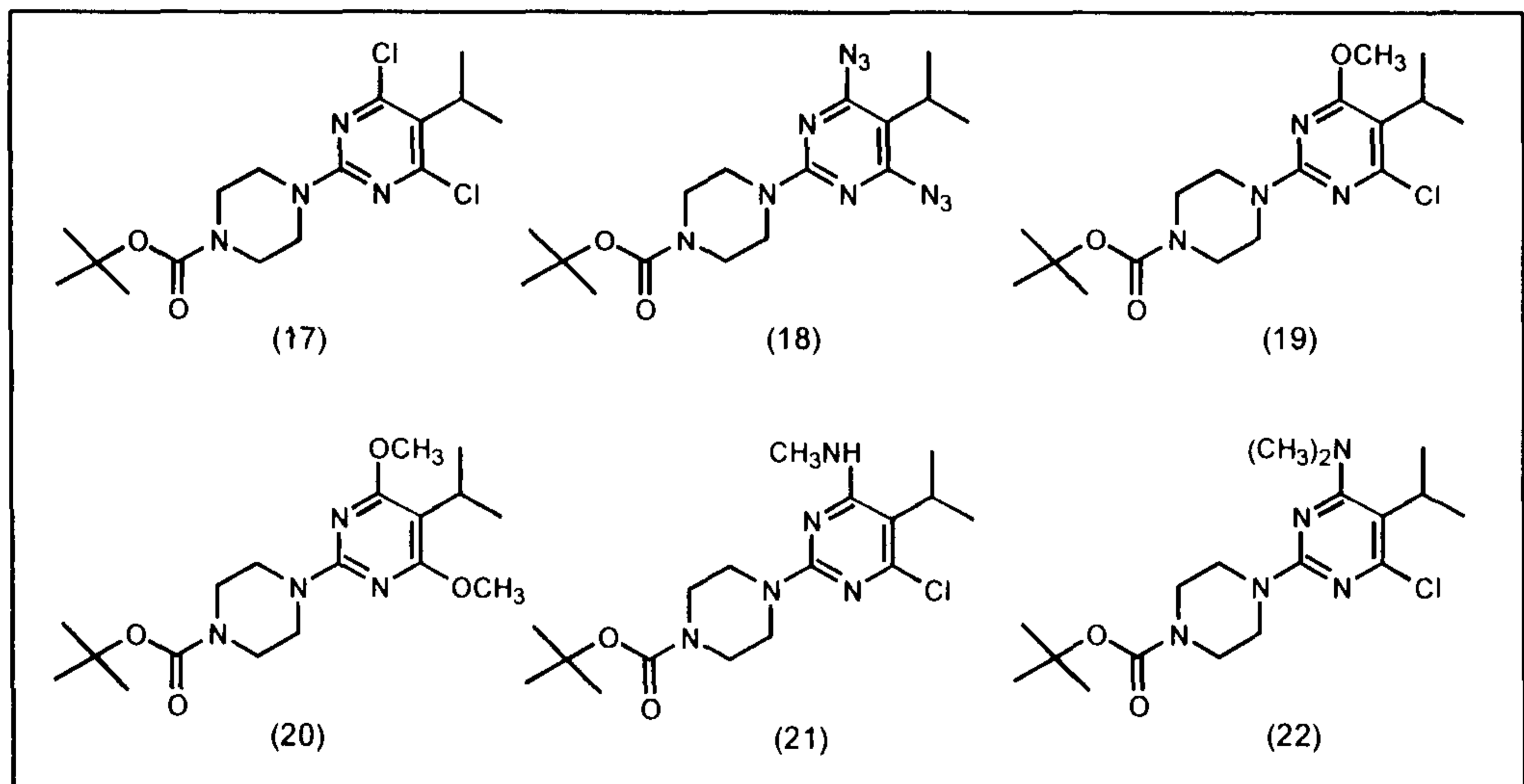
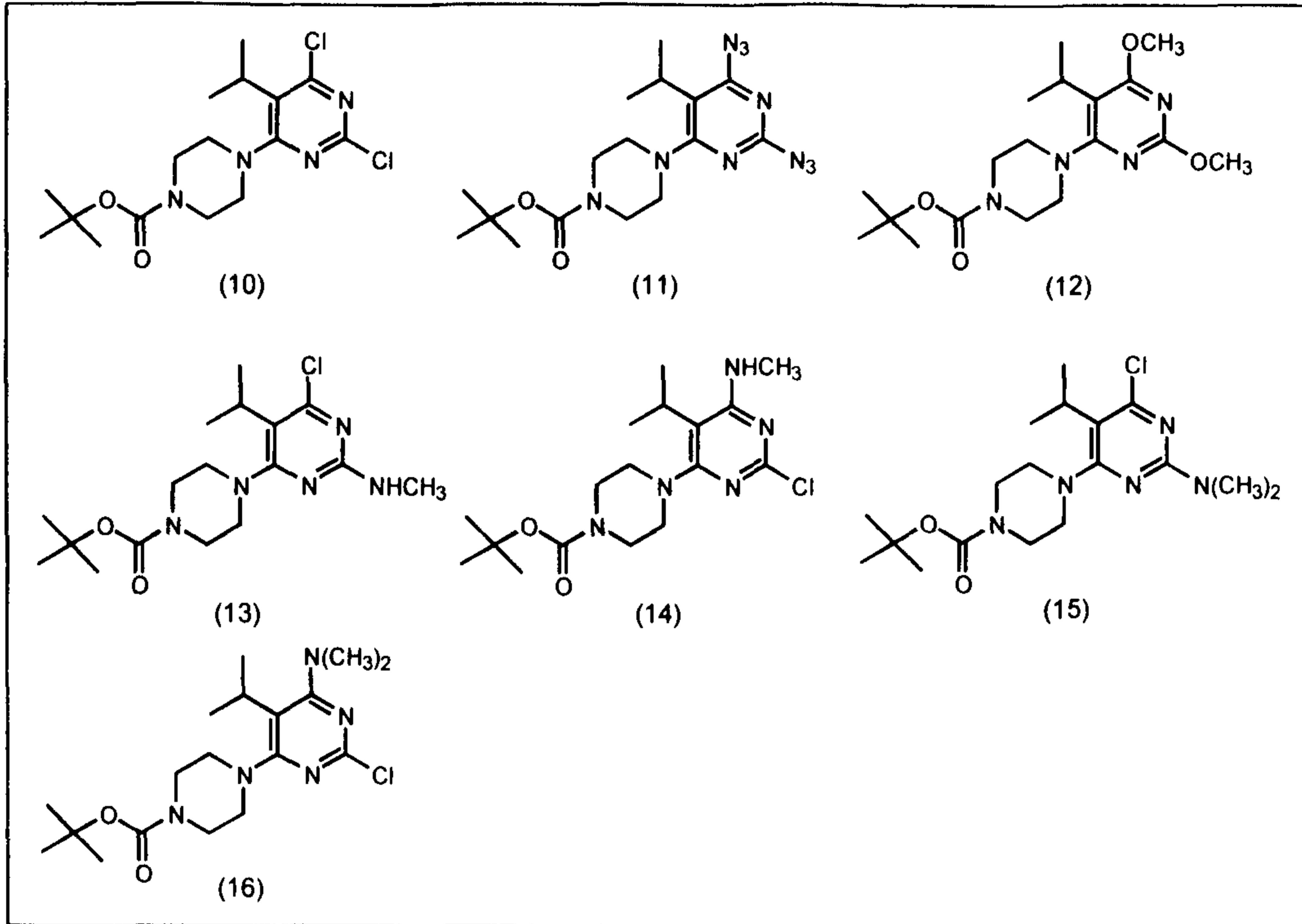


상기 화합물들을 합성하기 위하여 사용된 화합물 중 5-isobutyl-2,4,6-trichloropyrimidine은 diethyl malonate로부터 Scheme 1에 요약한 바와 같이 합성할 수 있었으며 목표 화합물들은 Scheme 2에 요약한 바와 같이 합성할 수 있었다.

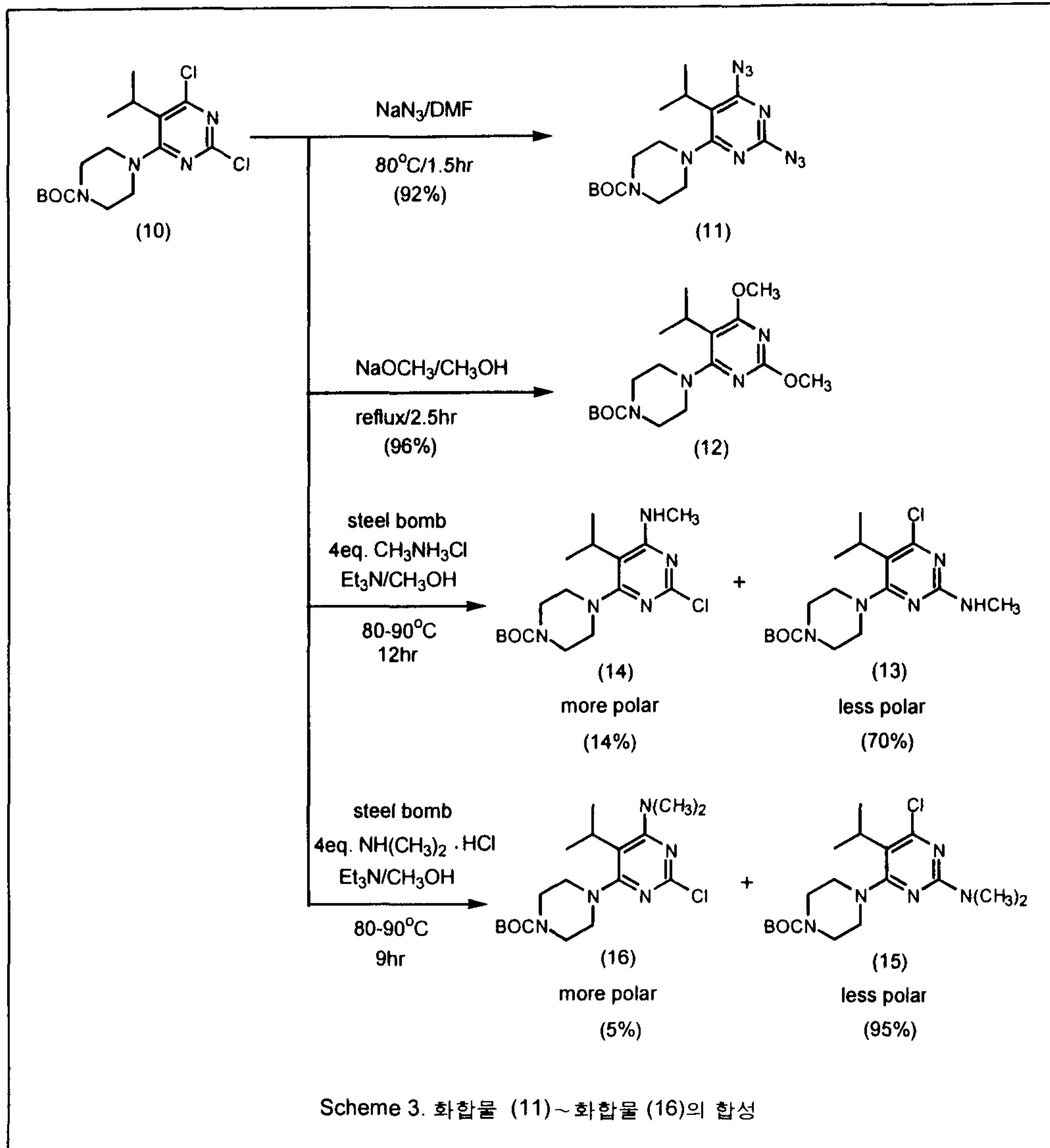


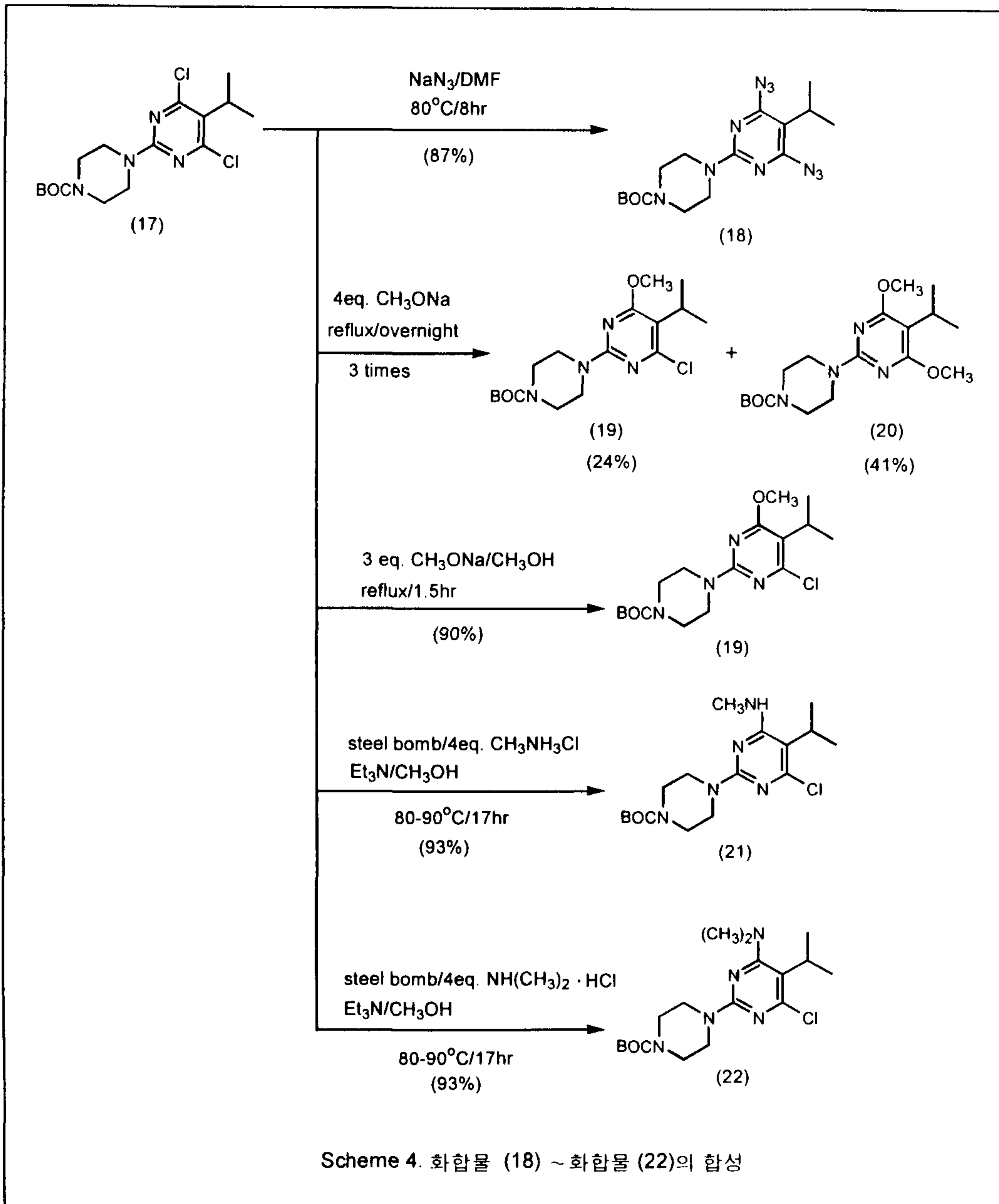


그 밖에 더욱 다양한 종류의 화합물들을 합성하기 위하여 전년도 연구에서 확보된 화합물 (10)을 이용하여 화합물 (11)~화합물 (16)을 합성하였고 화합물 (17)을 이용하여 화합물 (18)~화합물 (22)를 합성하였는데 이들은 차기년도의 연구에 중간체로 활용할 예정이다.



상기 화합물들은 Scheme 3 및 Scheme 4에 요약한 바와 같이 합성할 수 있었다.





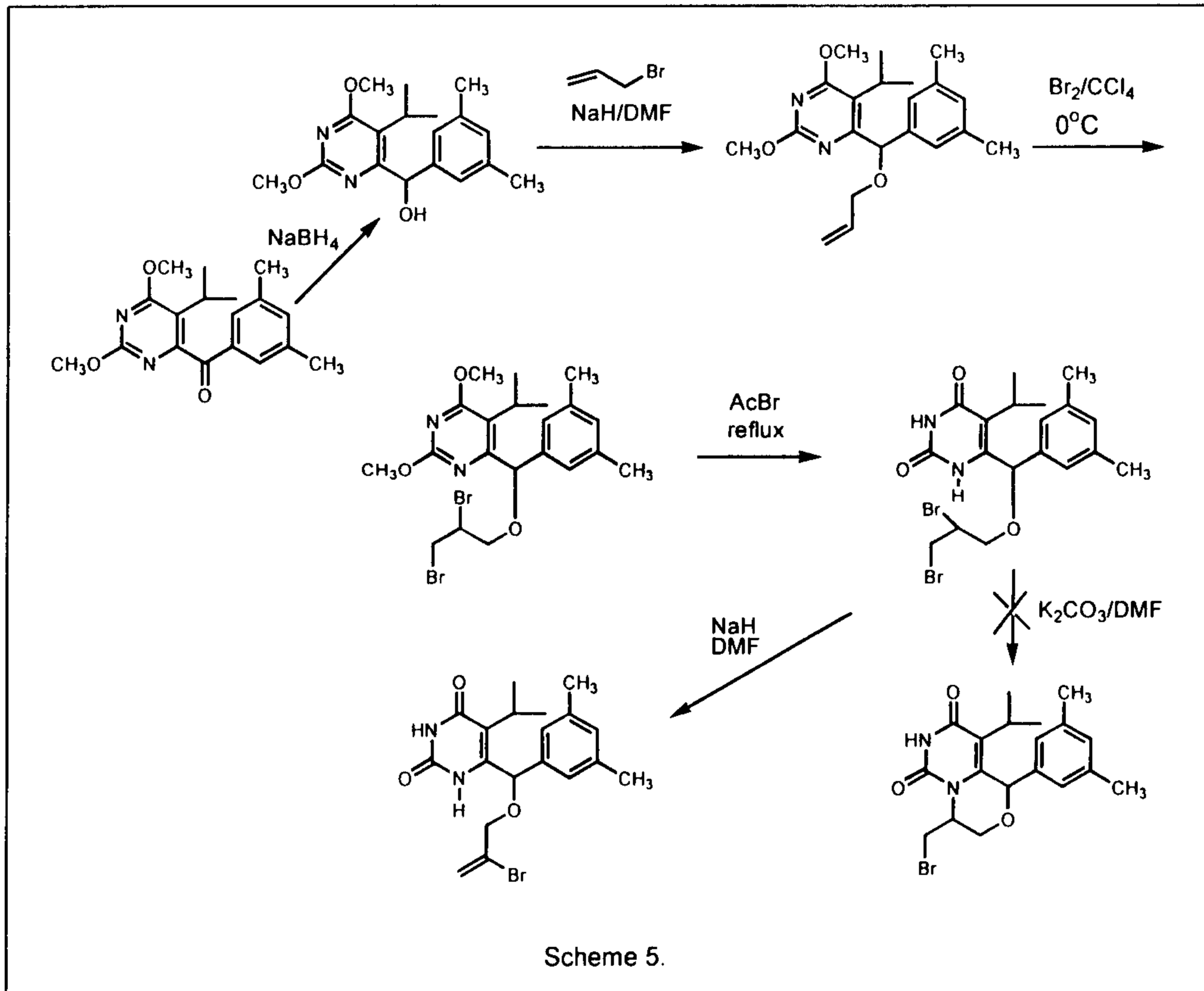
생리활성도

합성된 Delavirdine 유도체 6가지를 HIV-1에 대하여 screening 하였으나 활성도가 모두 없는 것으로 판명되었다.

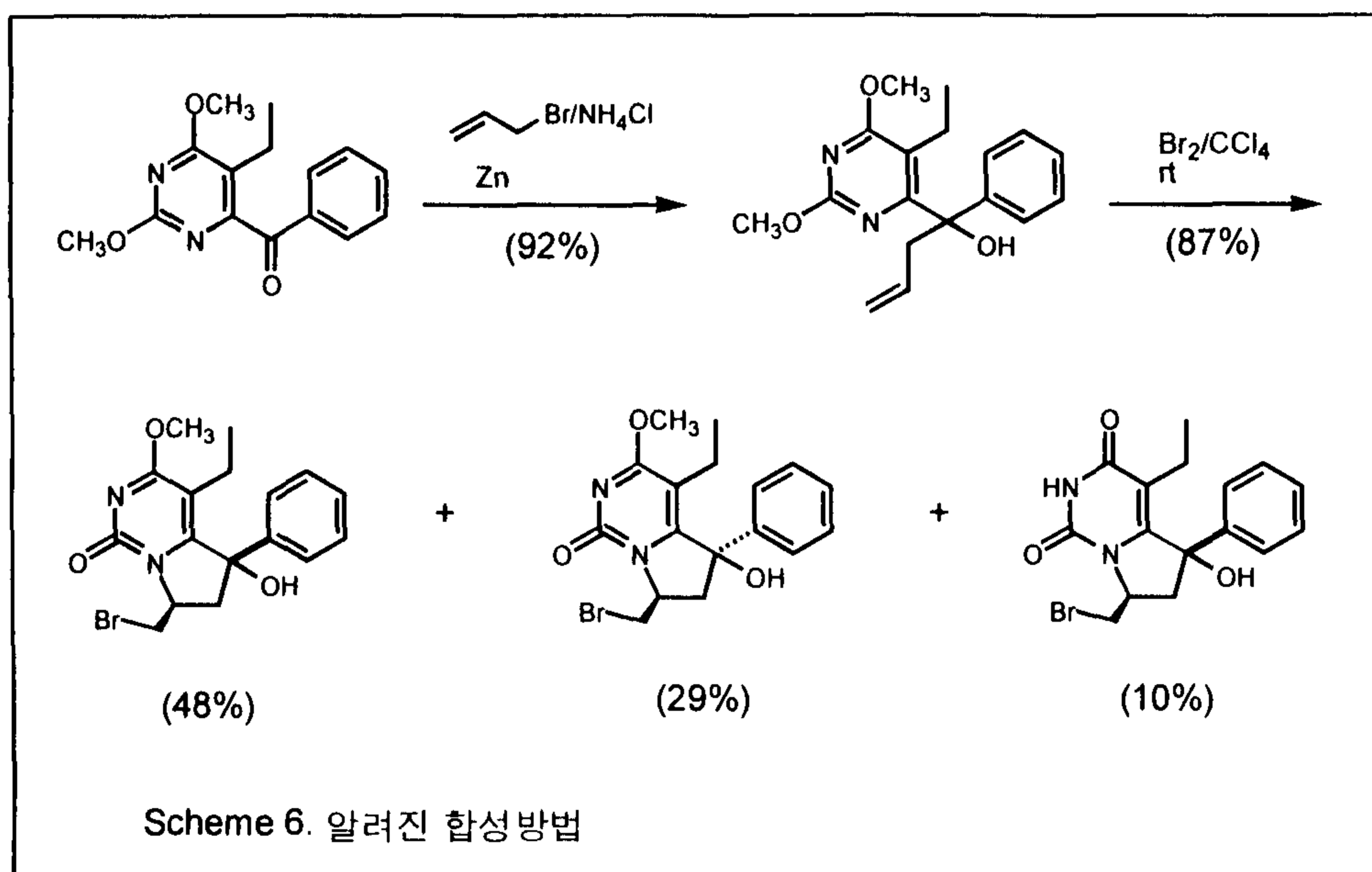
다. 일반식 (III)의 화합물

(1) 기초 연구

일반식 (III)의 화합물들을 합성하기 위하여 Scheme 5와 같은 실험 방법을 연구하였으나 목표화합물들을 얻을 수 없었다.

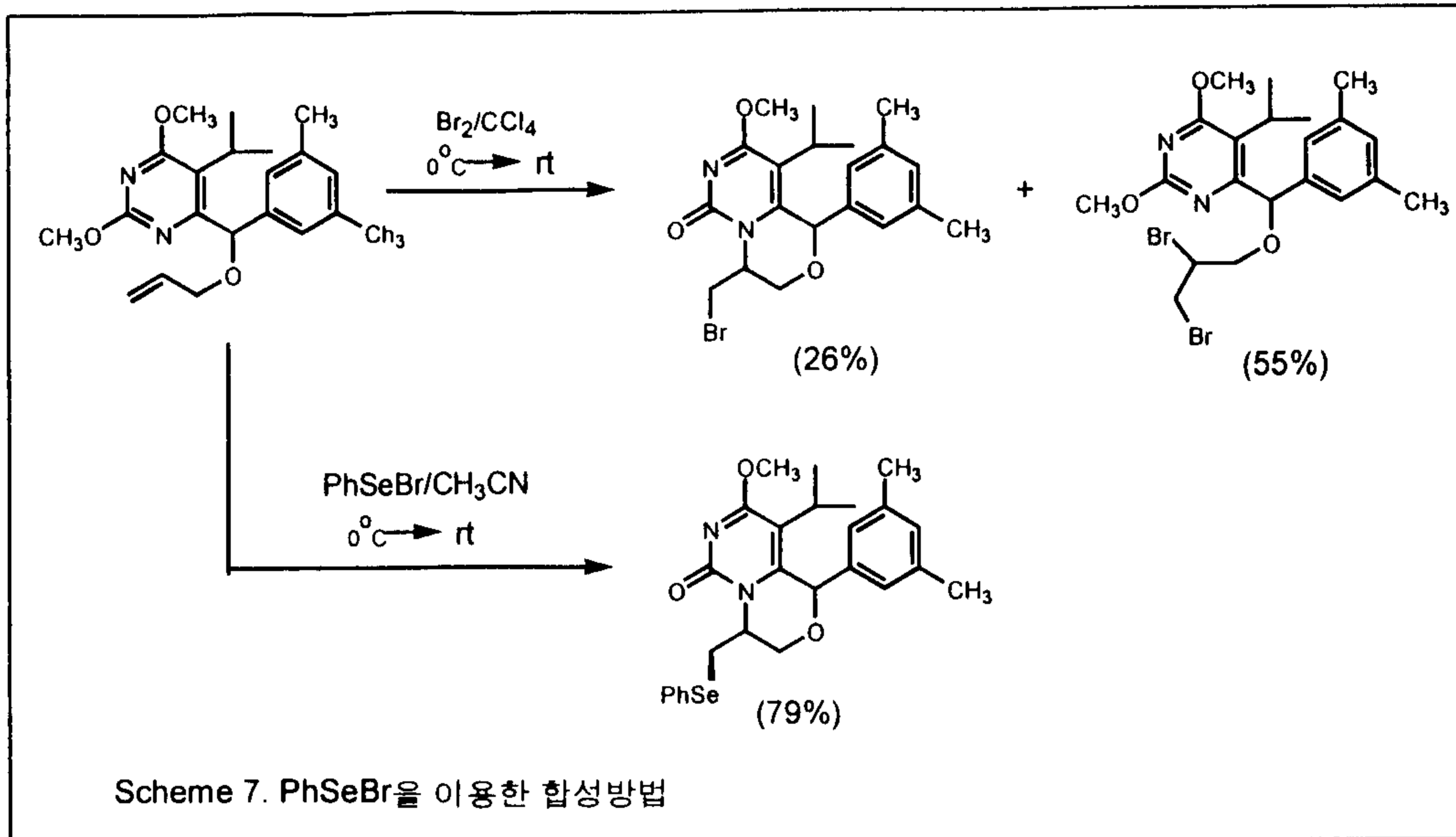


결국, 새로운 합성법이 필요하게 되었는데 본 연구도중에 Scheme 6과 같은 본 연구목표의 화합물들과 유사한 화합물의 합성법이 보고되었다.¹¹⁻¹²⁾



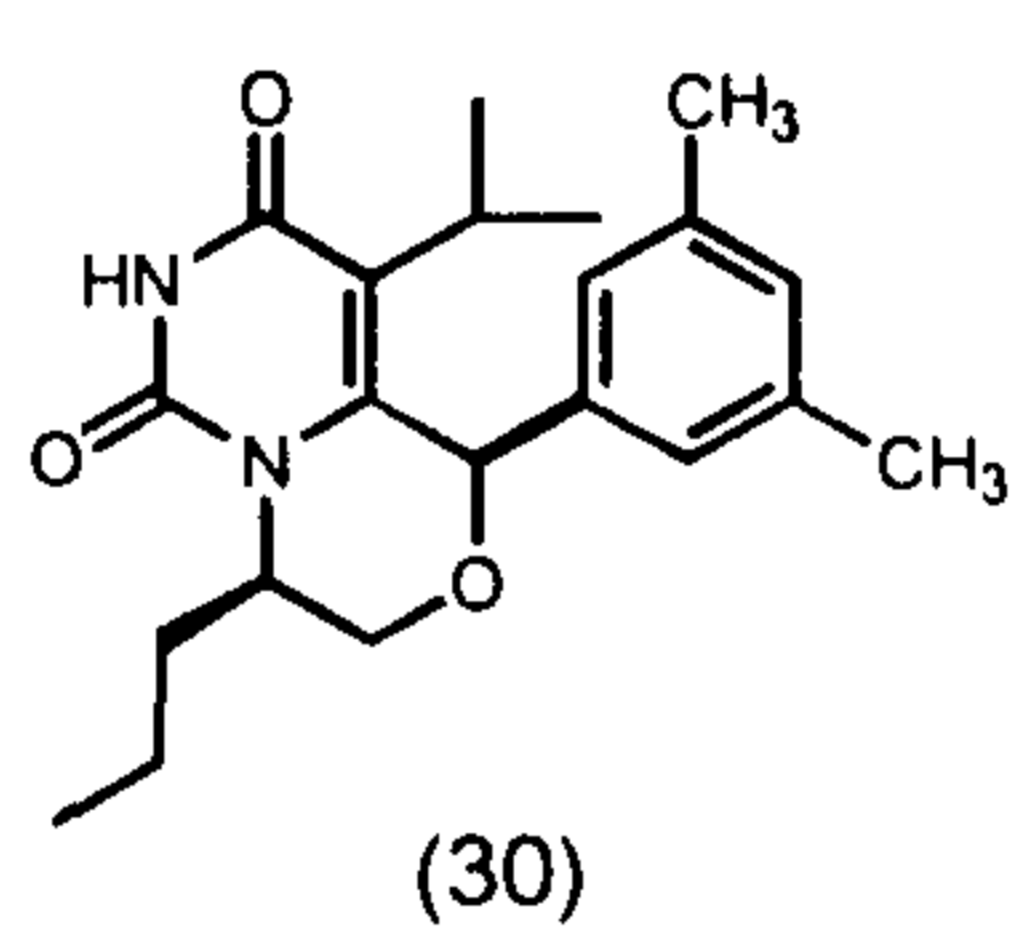
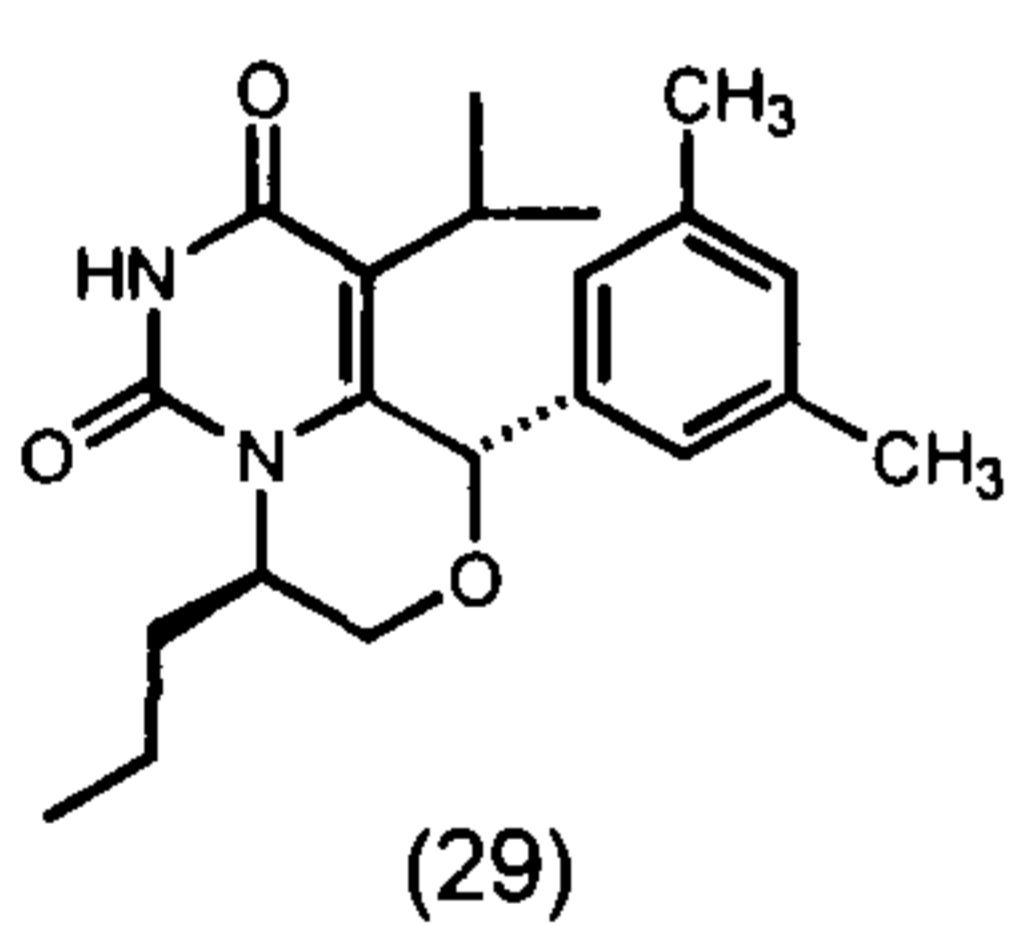
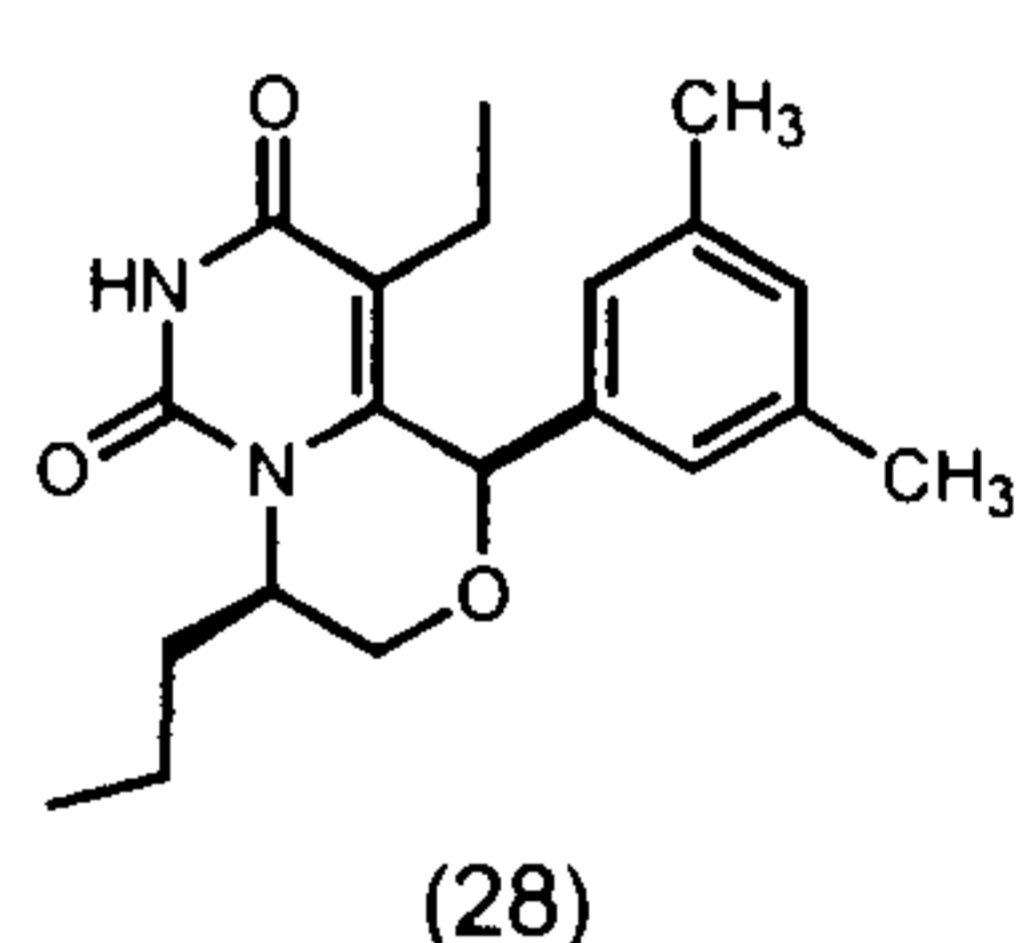
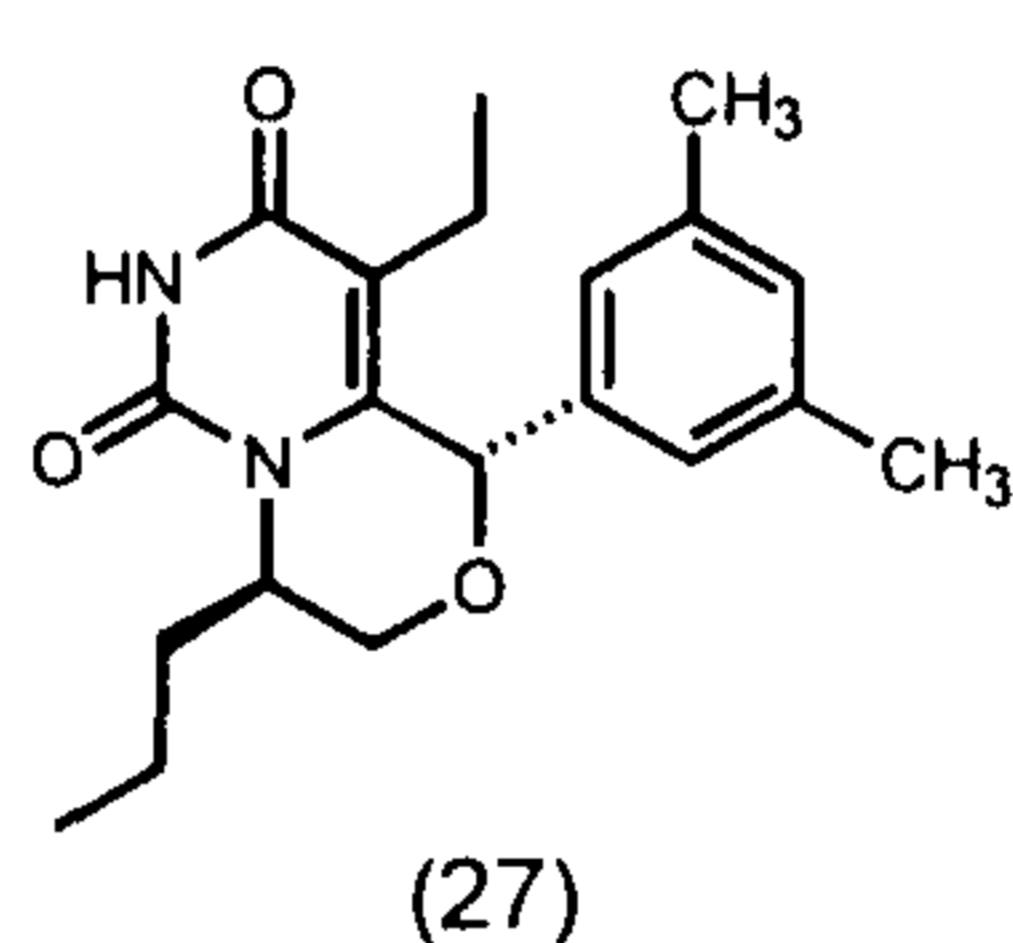
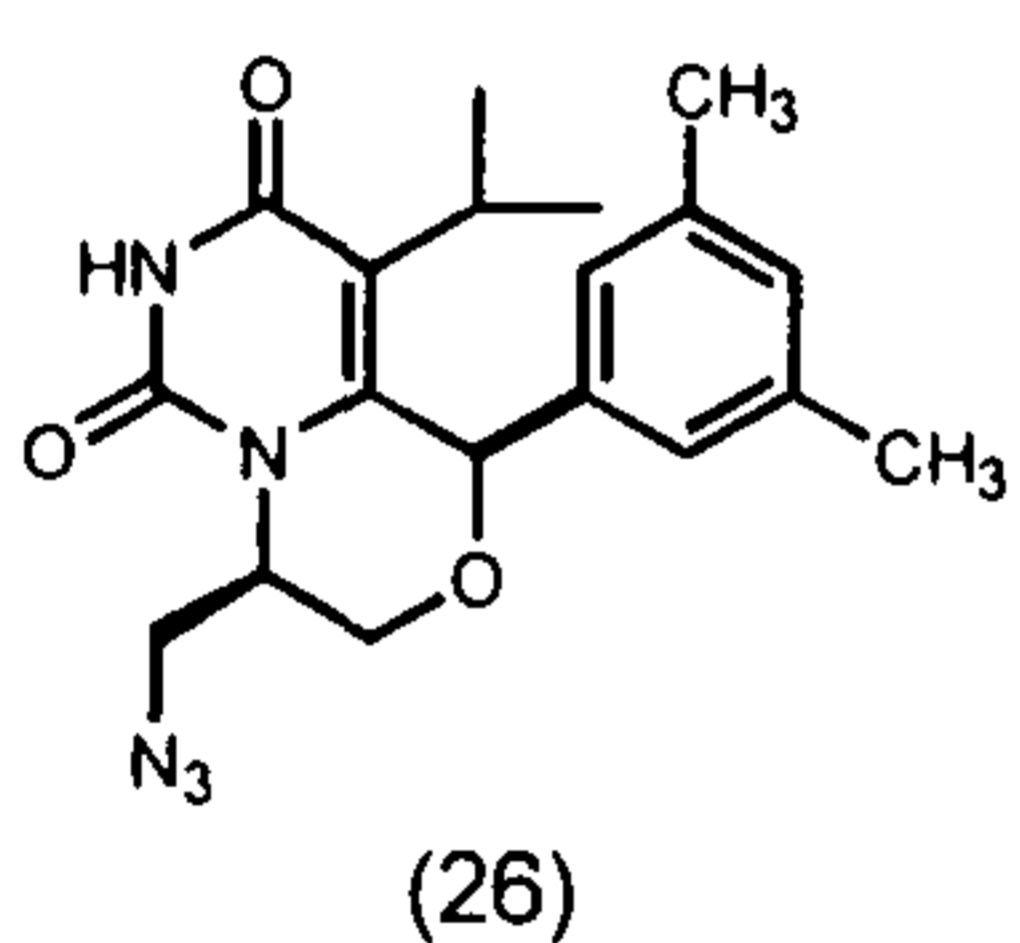
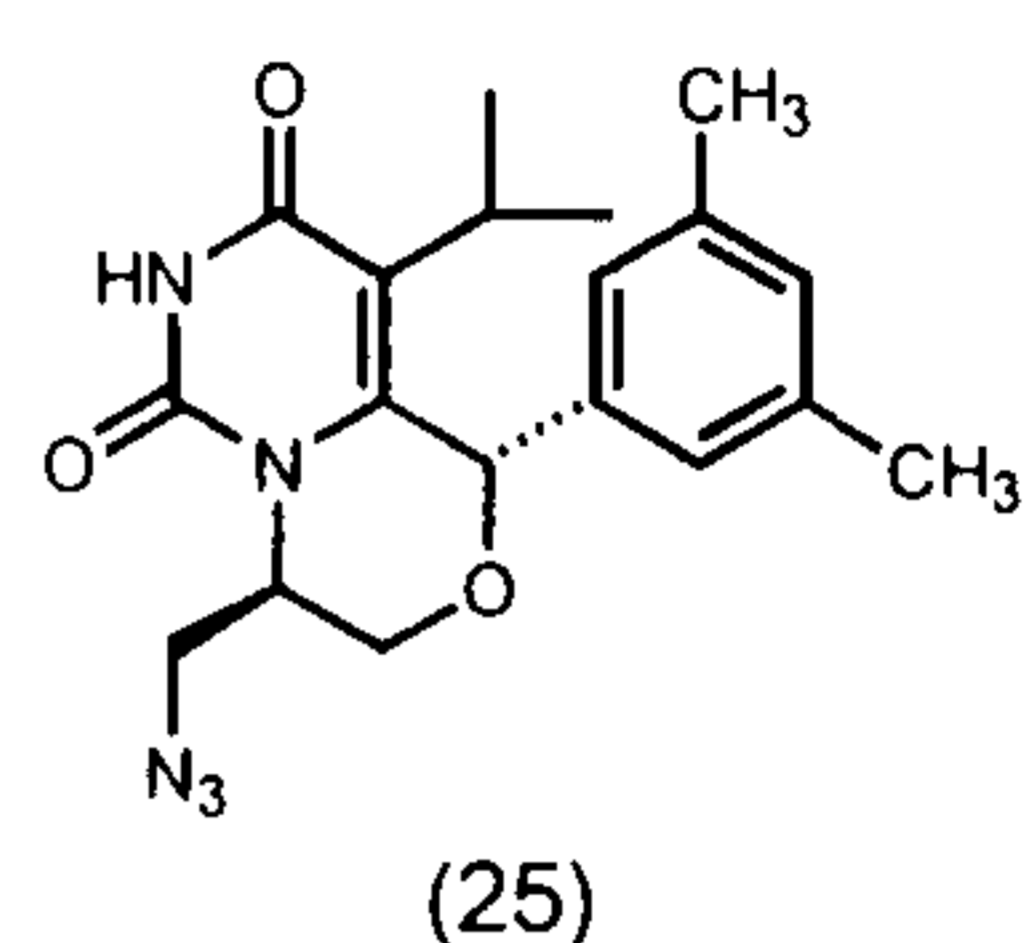
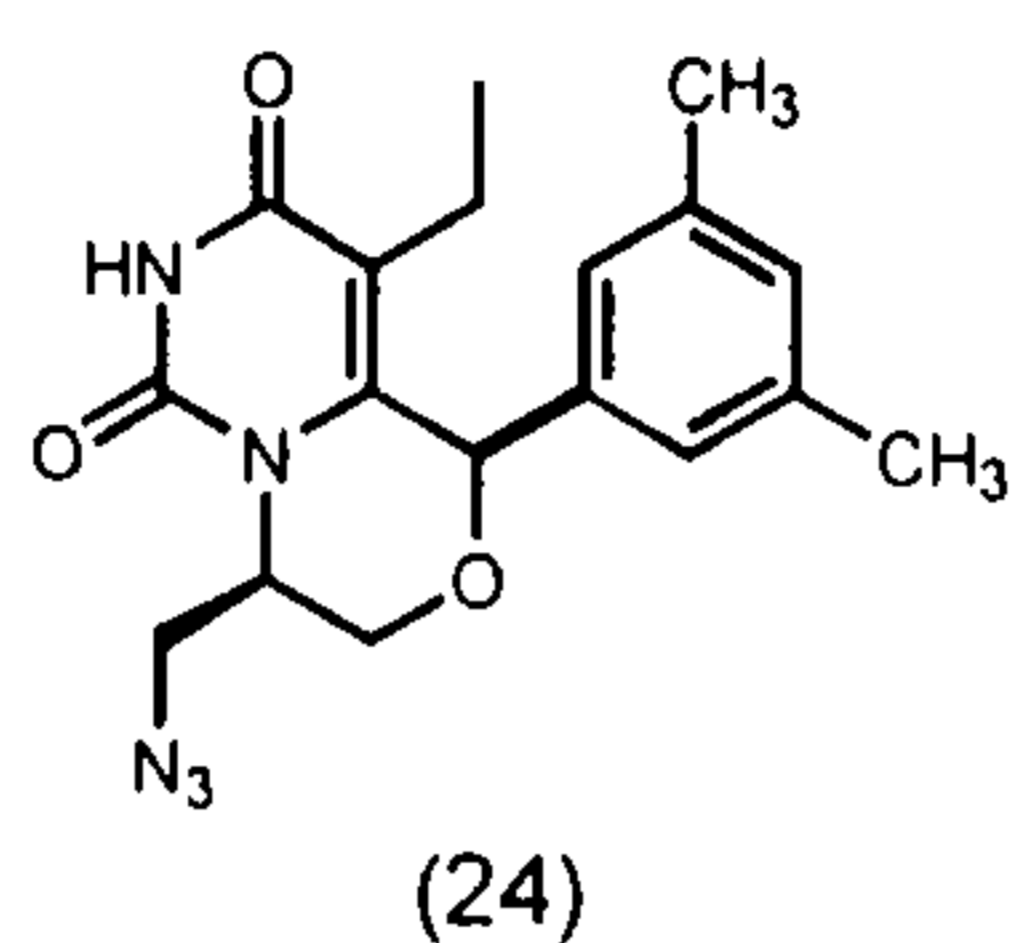
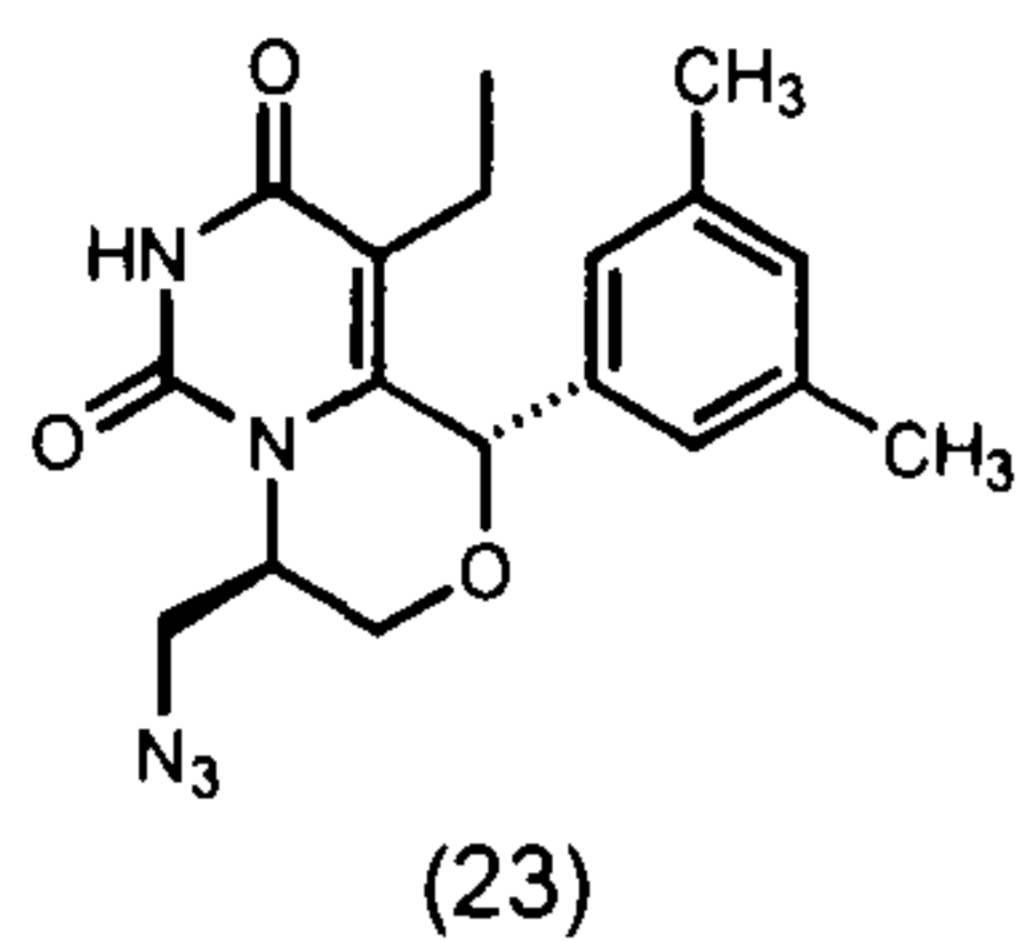
따라서, 상기 합성법을 본 연구의 목표화합물 합성에 도입해 보기로 하고 앞에서 얻은 중간체를 보고된 바와 같은 조건에서 반응시켜 보았다. 그 결과 6-membered ring이 약 24%의 수율(trans:cis = 1.6:1)로 얻어지고 Br₂의 addition product가 약 58%로 얻어졌다. 알려진 반응조건은 목표화합물이 얻어지기는 하였으나 수율이 너무 낮은 관계로 Br₂ 대신에 새로운 reagent를 연구하던 중에 PhSeBr을 사용하면 6-membered ring이 79%(trans:cis = 1:2)의 수율로 얻을 수 있음을 알았다.

이 결과는 Scheme 7에 요약하였다.



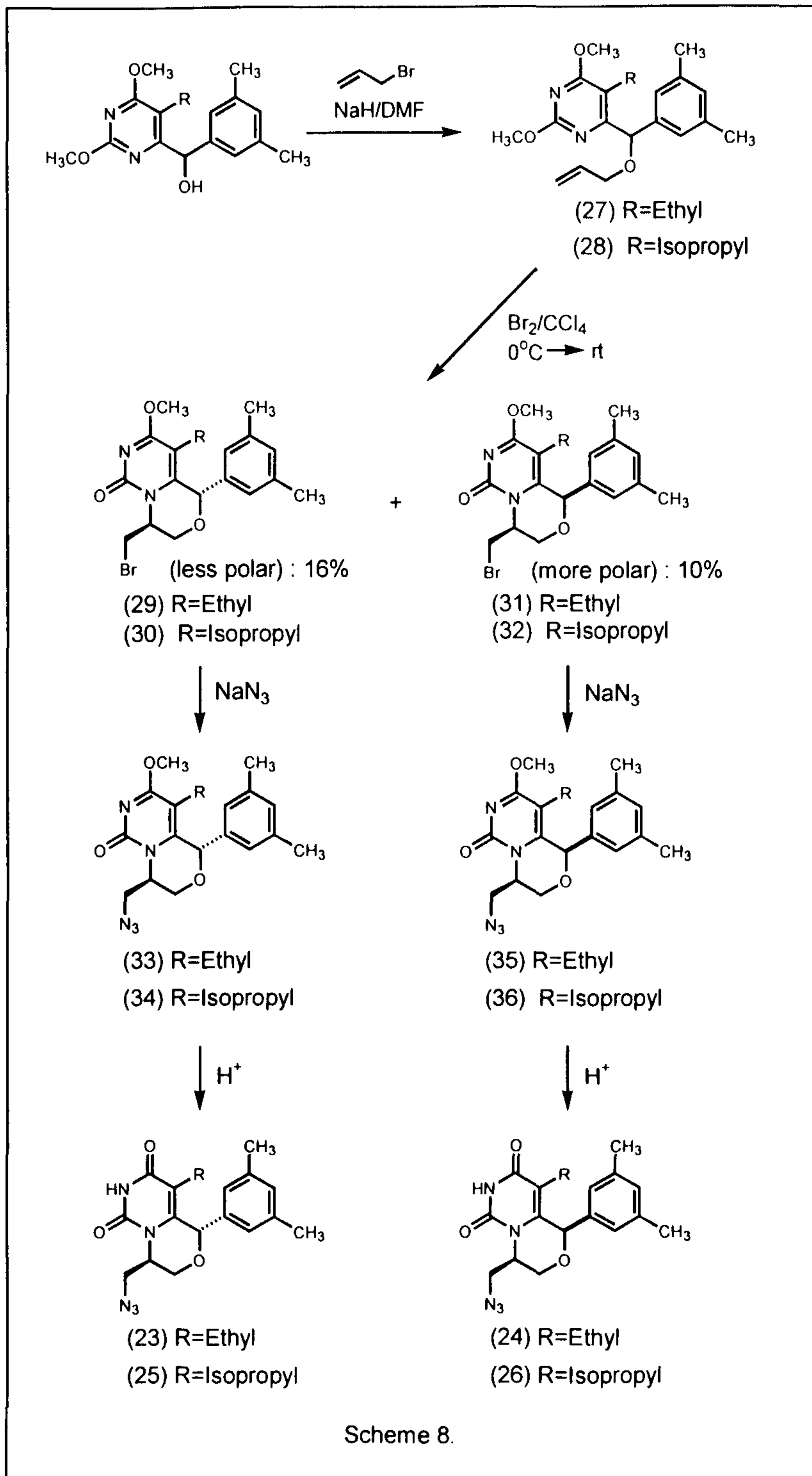
(2) 목표화합물의 합성

상기 연구결과를 토대로 하기과 같은 8가지의 목표화합물들을 알려진 합성방법 또는 본 연구에서 개발된 합성방법을 이용하여 합성하였다.



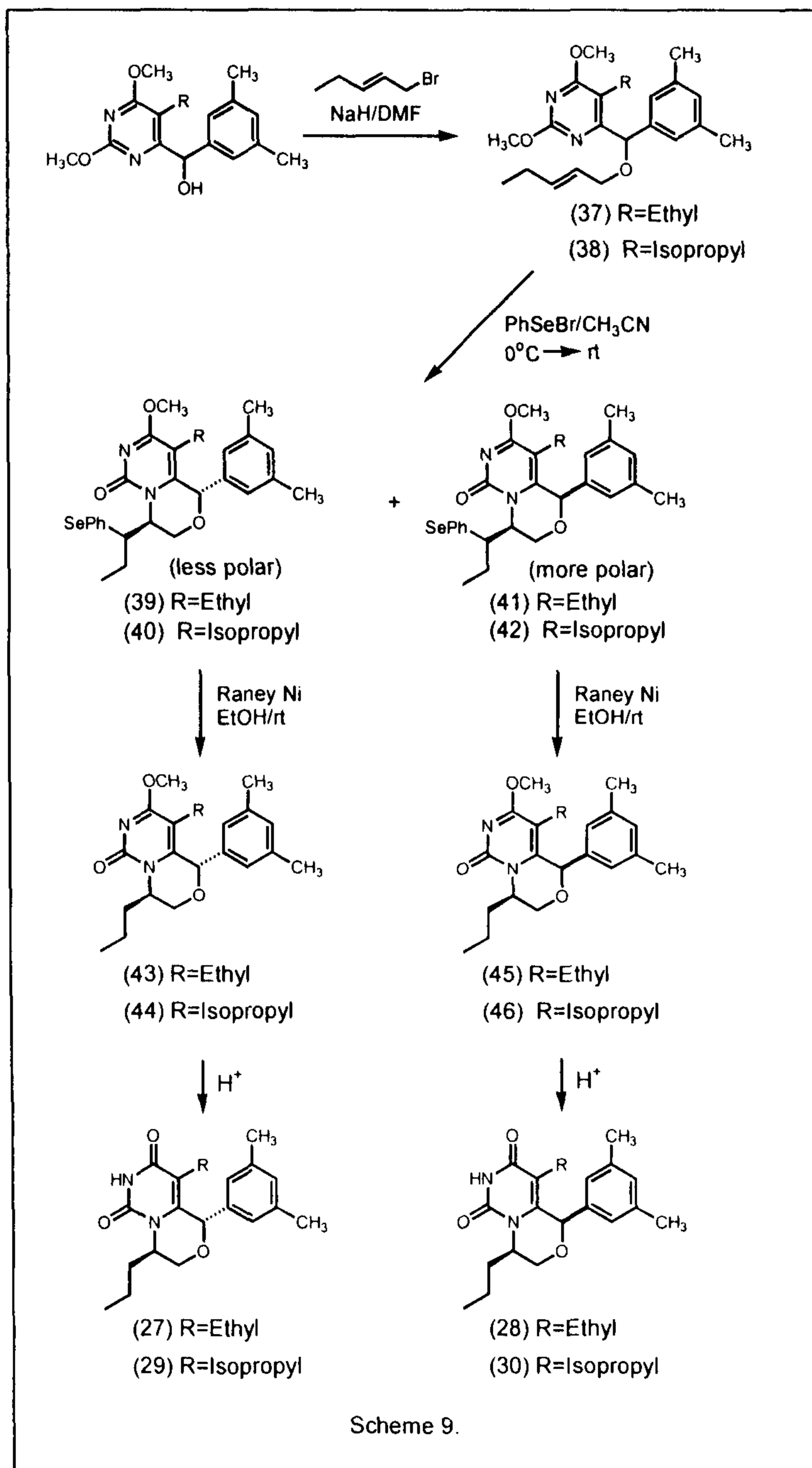
① 화합물 (23)~(26)의 합성

알려진 합성방법을 이용하여 6-membered ring을 합성한 후 생성된 브로모화합물을 azido group으로 치환하여 목표화합물을 합성하였다. 그 결과는 Scheme 8에 요약하였다.



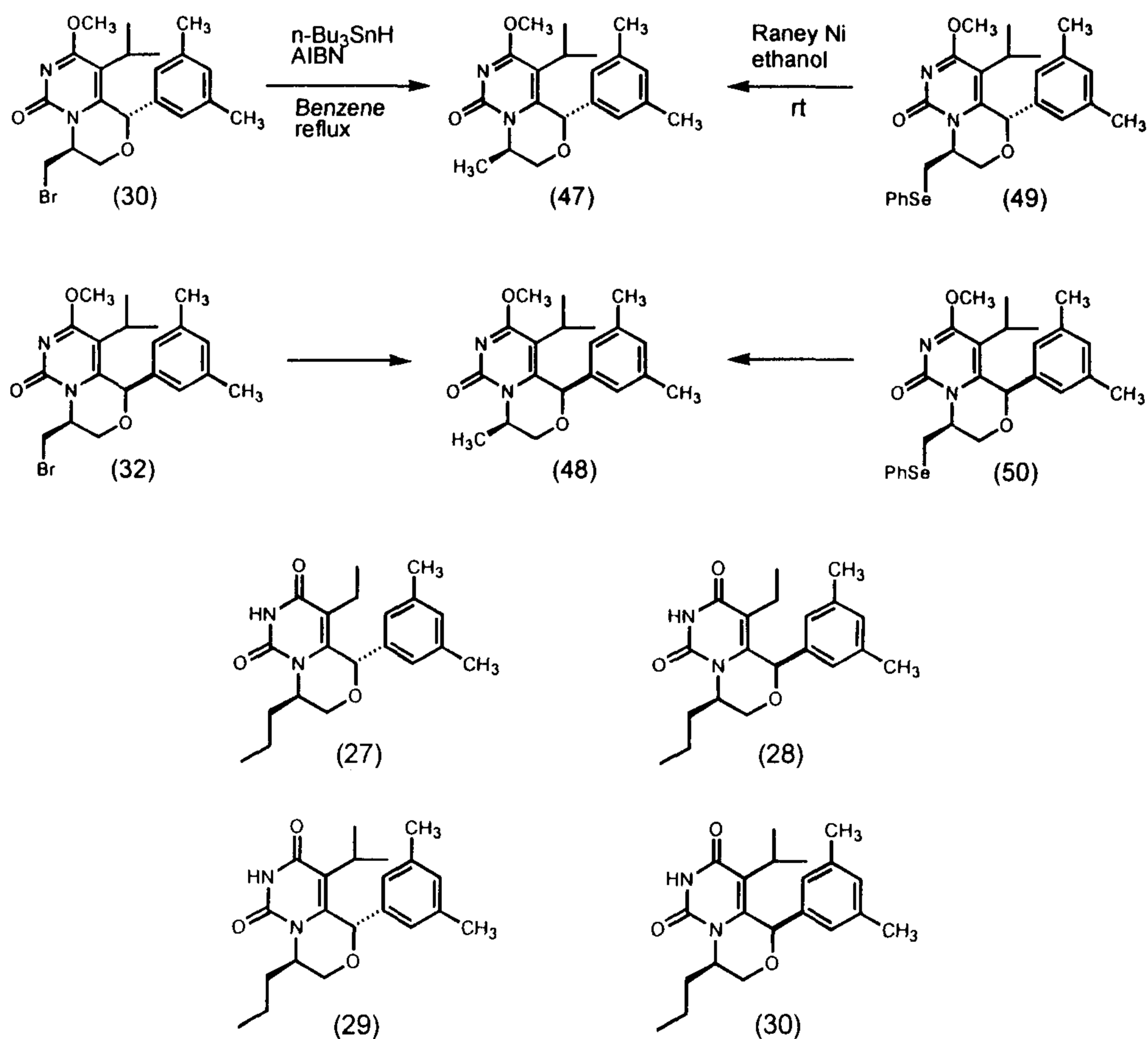
② 화합물 (27)~(30)의 합성

본 연구에서 개발된 반응조건인 PhSeBr을 이용하여 6-membered ring을 합성하였으며 그 결과는 Scheme 9에 요약하였다.



③ 화합물의 구조규명

앞서 Scheme 7, Scheme 8 및 Scheme 9에 요약된 바와 같이 합성된 6-membered ring의 cis 및 trans isomer의 구조는 우선 silica gel column으로 cis 및 trans isomer를 분리한 다음 하기와 같이 halogen 또는 PhSe group을 제거한 다음 생성된 methyl group과 aromatic ring의 proton간의 NOE효과를 nmr에서 측정하여 확인할 수 있었다. 즉, cis 화합물 (48), (28) 및 (30)의 경우는 새로 형성된 6-membered ring의 methyl 또는 methylene proton과 aromatic ring의 proton간에 2.63%, 8.33% 및 5.01%의 NOE 효과를 각각 보여주었고 trans 화합물인 화합물 (47), (27) 및 (29)는 NOE 효과를 전혀 보여주지 않았다.



④ 생리활성도

합성된 8가지의 목표화합물들을 HIV-1에 대하여 screening하였다. 대조화합물인 MKC-442보다 활성도가 크게 떨어졌으나 구조변형을 한 것이므로 lead화합물로서의 활성도는 충분히 보여주고 있는 것으로 사려된다. 결과는 표 1에 요약하였다.

표 1. 합성된 화합물의 HIV-1에 대한 활성도 (MT-4)

순번	화합물	CD ₅₀ (μg/mL)	ED ₅₀ (μg/mL)	SI (CD ₅₀ /ED ₅₀)
1	23	40	0.305	131
2	24	37	0.329	112
3	25	14	0.076	184
4	26	14	1.25	11
5	27	> 100	0.156	> 641
6	28	> 100	0.176	> 568
7	29	9	0.092	98
8	30	16	1.60	10
9	MKC-442	35	0.0029	12,000

CD₅₀ : MT-4 세포의 50% 성장억제농도

ED₅₀ : HIV의 50% 성장억제농도

제 2 절 실험내용

1. 화합물 1 및 2의 합성

5-Chloroindole-2-carboxylic acid의 piperazine amide 789mg(3mmol)과 5-isopropyl-2,4,6-trichloropyrimidine 675mg(3mmol)을 aceto-

nitrile 10mL에 녹이고 silver carbonate 825mg(3mmol)을 가한 다음 2시간 동안 교반하면서 환류시켰다. 이어서 반응물을 celite pad를 통하여 여과하고 감압농축한 다음 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, EA:Hex(1:4))로 분리하여 195mg(수율 14%)의 more polar product(화합물 1)과 47mg(수율 30%)의 less polar product(화합물 2)를 흰색고체형태로 얻었다.

화합물 1 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.46 (6H, d, $J=7.1\text{Hz}$), 3.19 (1H, m), 3.48~3.54 (4H, m), 3.98, 4.09 (4H, m), 6.74 (1H, s), 7.21~7.62 (3H, m).

$m/Z(\text{EI})$ 451(M^+ , 23%)

화합물 2 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.36 (6H, d, $J=7.3\text{Hz}$), 3.60 (1H, m), 3.91~3.98 (8H, m), 6.73 (1H, m), 7.21~7.62 (3H, m), 9.61 (1H, s).

$m/Z(\text{EI})$ 451(M^+ , 37%)

2. 화합물 3 및 4의 합성

5-methoxyindole-2-carboxylic acid의 piperazine amide 777mg (3mmol)과 5-isopropyl-2,4,6-trichloropyrimidine 675mg(3mmol)을 acetonitrile 10mL에 녹이고 silver carbonate 825mg(3mmol)을 가한 다음 3시간 동안 교반하면서 환류시켰다. 이어서 반응물을 celite pad를 통하여 여과하고 감압농축한 다음 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, EA:Hex(1:4))로 분리하여 527mg(수율 39%)의 more polar product(화합물 3)과 415mg(수율 33%)의 less polar product(화합물 4)를 흰색고체형태로 얻었다.

화합물 3 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.45 (6H, d, $J=7.1\text{Hz}$), 3.19 (1H, m), 3.47~3.52 (4H, m), 3.86~4.07 (4H, m), 6.75~7.36 (4H, m), 9.12 (1H, s).

화합물 4 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.36 (6H, d, $J=7.1\text{Hz}$), 3.61 (1H, m), 3.86~4.02 (8H, m), 6.72~7.36 (4H, m), 9.09 (1H, s).

3. 화합물 5 및 6의 합성

Indole-2-carboxylic acid의 piperazine amide 687mg(3mmol)과 5-isobutyl-2,4,6-trichloropyrimidine 675mg(3mmol)을 acetonitrile 10mL에 녹이고 silver carbonate 825mg(3mmol)을 가한 다음 3시간 동안 교반하면서 환류시켰다. 이어서, 반응물을 celite pad를 통하여 여과하고 감압농축한 다음 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, EA:Hex(1:4))로 분리하여 323mg(수율 25%)의 more polar product(화합물 5)과 388mg(수율 63%)의 less polar product(화합물 6)가 흰색고체형태로 얻어졌다.

화합물 5 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 0.88 (1H, s), 0.91 (1H, s), 1.93~2.08 (1H, m), 2.65 (2H, d, $J=6.9\text{Hz}$), 3.65~3.62 (4H, m), 4.02~4.17 (4H, m), 6.82 (1H, d, $J=2.0\text{ Hz}$), 7.11~7.68 (4H, m), 9.44 (1H, s).

화합물 6 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 0.95 (3H, s), 0.99 (3H, s), 1.92~2.17 (1H, m), 2.62 (2H, d, $J=7.3\text{Hz}$), 3.91~4.03 (8H, m), 6.81 (1H, d, $J=1.3\text{Hz}$), 7.11~7.69 (4H, m), 9.43 (1H, s).

4. 화합물 11의 합성

화합물 (10) 3.75g(10mmol)을 DMF 20mL에 녹이고 sodium azide 1.9g(30mmol)을 가한 다음 80°C의 oil bath에서 1.5hr 교반한 후 감압농축하고 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, Ether:Hex(1:4))로 분리하여 3.58g(수율 92%)의 표제화합물을 노란색의 고체화합물로 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.31 (6H, d, $J=7.1\text{Hz}$), 1.48 (9H, s), 2.97 (1H, m), 3.22~3.27 (4H, m), 3.51~3.56 (4H, m).

5. 화합물 12의 합성

Methanol 40mL에 sodium 0.92g(40mmol)을 가하여 모두 반응시킨 다음 화합물(10) 3.75g(10mmol)을 가한 다음 2.5hr동안 교반하면서 환류시켰다. 이어서, 반응물을 감압농축하고 잔류물을 ether에 녹이고 물

로 씻고, MgSO₄로 건조시키고 여과한다음 감압농축하여 얻은 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, Ether:Hex(1:5))로 분리하여 3.5g(수율 96%)의 표제화합물을 흰색고체형태로 얻었다.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.22 (6H, d, J=7.1Hz), 1.44 (9H, s), 2.97 (1H, m), 3.10~3.15 (4H, m), 3.47~3.52 (4H, m), 3.87 (3H, s), 3.91 (3H, s).

6. 화합물 13 및 14의 합성

Steel bomb에 화합물(10) 3.75g(10mmol), methanol 50mL, methylamine의 염산염 2.7g(40mmol)과 triethylamine 7mL(50mmol)을 가한 다음 80~90°C에서 12시간 방치한다음 반응물을 감압농축하고 잔류물을 ether에 녹이고 2N aq.NaOH로 씻어준 다음, MgSO₄로 건조시켜 감압농축 후 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, EA:Hex(1:9))로 분리하여 2.5g(수율 70%)의 less polar product(화합물 13)와 0.5g(수율 14%)의 more polar product(화합물 14)를 흰색고체형태로 얻었다.

화합물 13 : ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.36 (6H, d, J=7.3Hz), 1.47 (9H, s), 2.94 (3H, d, J=5.0Hz), 3.03~3.20 (5H, m), 3.51~3.56 (4H, m), 4.95 (1H, s).

화합물 14 : ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.29 (6H, d, J=7.5Hz), 1.47 (9H, s), 3.03~3.07 (7H, m), 3.32 (1H, m), 3.50~3.55 (4H, m), 4.75 (1H, s).

7. 화합물 15 및 16의 합성

Steel bomb에 화합물(10) 3.75g(10mmol), methanol 50mL, dimethylamine의 염산염 3.26g(40mmol) 및 triethylamine 7mL(50mmol)을 가한 다음 80~90°C의 oil bath에 9시간 방치하였다. 이어서, 반응물을 감압농축하고 잔류물을 ether에 녹인 다음 2N aq.NaOH로 씻어주고 MgSO₄로 건조시키고 여과하여 감압농축 후 얻은 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, EA:Hex(1:9))로 분리하여

3.7g(수율 95%)의 less polar product(화합물 15)와 200mg(수율 5%)의 more polar product(화합물 16)를 흰색고체형태로 얻었다.

화합물 15 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.35 (6H, d, $J=7.3\text{Hz}$), 1.47 (9H, s), 3.01~3.18 (11H, m), 3.50~3.55 (4H, m).

화합물 16 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.33 (6H, d, $J=6.9\text{Hz}$), 1.45 (9H, s), 2.92~3.03 (11H, m), 3.51~3.56 (4H, m).

8. 화합물 18의 합성

화합물(17) 2g(5.3mmol)을 DMF 15mL에 녹이고 sodium azide 1.04g(16mmol)을 가한 다음 80°C 의 oil bath에서 8시간 교반하였다. 이어서, 반응물을 감압농축하고 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, Ether:Hex(1:8))로 분리하여 1.8g(수율 87%)의 표제화합물을 노란색의 고체화합물로 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.6 (6H, d, $J=7.1\text{Hz}$), 1.48 (9H, s), 3.02 (1H, m), 3.45~3.50 (4H, m), 3.72~3.77 (4H, m).

9. 화합물 19 및 20의 합성

Methanol 50mL에 sodium metal 2g을 반응시키고 화합물(17) 2.5g(6.67mmol)을 가한 다음 약 24시간 교반하면서 환류시켰다. 이어서, 반응물을 감압농축하고 잔류물을 ether에 녹인 다음 물로 씻고 MgSO_4 로 건조시키고 여과하여 감압농축 후 얻은 잔류물을 컬럼크로마토그래피(용출액, EA:Hex(1:9))로 분리하여 1g(수율 41%)의 less polar product(화합물 19)와 0.6g(수율 24%)의 more polar product(화합물 20)을 흰색고체형태로 얻었다.

화합물 19 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.20 (6H, d, $J=7.1\text{Hz}$), 1.46 (9H, s), 3.33(1H, m), 3.42~3.48 (4H, m), 3.69~ 3.71 (4H, m), 3.89 (3H, s).

화합물 20 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 1.16 (6H, d, $J=7.1\text{Hz}$), 1.47 (9H, s), 3.17 (1H, m), 3.44~3.49 (4H, m), 3.69~ 3.74 (4H, m), 3.85 (6H, s).

10. 화합물 21의 합성

Steel bomb에 화합물(17) 2.5g(6.67mmol), methanol 50mL, methylamine의 염산염 1.8g(26.7mmol) 및 triethylamine 4.6mL(33mmol)을 가하고 80~90°C의 oil bath에서 17시간 방치하였다. 이어서, 반응물을 감압농축하고 잔류물을 ether에 녹이고 2N aq.NaOH로 씻어주고 MgSO₄로 건조시키고 여과하여 감압농축 후 얻은 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(용출액, EA:Hex(1:9))로 분리하여 2.3g(수율 93%)의 표제화합물을 흰색고체형태로 얻었다.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.26 (6H, d, J=7.3Hz), 1.48 (9H, s), 2.99 (3H, d, J=4.7Hz), 3.01~3.18 (5H, m), 3.69~3.74 (4H, m), 4.14 (1H, br.s).

11. 화합물 22의 합성

Steel bomb에 화합물(17) 2.5g(6.67mmol), methanol 50mL, dimethylamine의 염산염 2.2g(26.7mmol) 및 triethylamine 4.6mL(33mmol)을 가하고 80~90°C의 oil bath에서 17시간 방치하였다. 이어서, 반응물을 감압농축하고 잔류물을 ether에 녹이고 2N aq.NaOH로 씻어주고 MgSO₄로 건조시키고 여과하여 감압농축 후 얻은 잔류물을 컬럼 크로마토그래피(용출액, EA:Hex(1:9))로 분리하여 2.3g(수율 93%)의 표제화합물을 흰색고체형태로 얻었다.

¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ 1.37 (6H, d, J=7.1Hz), 1.48 (9H, s), 2.89 (6H, s), 3.12 (1H, m), 3.44~3.49 (4H, m), 3.69~3.74 (4H, m).

12. 화합물 27의 합성

알코올화합물 2g (6.62mmol)을 DMF 10ml에 녹인 후 ice bath로 cooling 시킨 후 질소 분위기하에서 NaH 265mg (6.62mmol)을 넣고 20분간 저어준 후 allyl bromide 1.7ml (13.24mmol)를 넣고 실온에서 6시간동안 교반하였다. 이어서, ether를 가한 다음 수세하고, MgSO₄

으로 건조시키고, 여과하여 감압농축 후 잔류물을 컬럼크로마토그래피 (*n*-hexane : EtOAc (10 : 1))로 분리하여 화합물 27 2.42g (수율 92%)을 oil형태로 얻었다.

$^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ 0.94 (3H, t, $J=7.3$ Hz), 2.28 (6H, s), 2.59 (2H, q, $J=7.3$ Hz), 3.96 (1H, s), 3.99 (3H, s), 4.04 (2H, d, $J=5.7$ Hz), 4.04 (2H, d, $J=5.7$ Hz), 5.55 (1H, s), 5.91~5.96 (1H, m), 6.88 (1H, s), 7.09 (2H, s); $^{13}\text{C-NMR}$ (50MHz, CDCl_3) 170.4, 165.8, 162.8, 150.8, 139.4, 137.5, 134.5, 129.1, 124.7, 117.1, 114.8, 80.9, 70.1, 54.4, 21.2, 17.3, 13.2 ;IR (KBr) 3078, 3011, 2959, 2874 cm^{-1} ; MS m/z (relative intensity) 342 (M^+ , 100%)

13. 화합물 28의 합성

알코올화합물 1g (3.16mmol) NaH 124mg (3.16mmol), allyl bromide 814 μl (6.32mmol)을 DMF 10ml에 녹인 뒤 화합물 27과 같은 방법으로 반응시킨 뒤 컬럼크로마토그래피 (*n*-hexane : EtOAc(10 : 1))로 분리하여 화합물 28 1.03g (수율 92%)을 흰색 고체형태로 얻었다.

m.p. 76-77 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.00 (s, 2H), 6.86 (s, 1H), 5.91~6.10 (m, 1H), 5.57 (s, 1H), 5.16~5.36 (m, 2H), 4.04 (d, $J=6.9$ Hz, 2H), 3.98(s, 3H), 3.96 (s, 3H), 3.25~3.45 (m, 1H), 2.26 (s, 6H), 1.14 (d, 3H), 0.92 (d, $J=6.9$ Hz, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (50MHz, CDCl_3) δ (ppm) 171.0, 166.0, 139.8, 137.5, 134.5, 128.9, 124.1, 118.6, 117.1, 82.6, 70.4, 54.5, 53.5, 25.3, 21.3, 19.9, 19.5; IR (KBr) 2994, 2960, 2869 cm^{-1} ; MS m/z (relative intensity) 356 (M^+ ,

18%), 315 (100%)

14. 화합물 29 및 31의 합성

화합물 (27) 1.5g (3.75mmol)을 CCl₄ 15ml에 녹인 뒤 Br₂ 193 μ l (3.75mmol)을 CCl₄ 2ml에 희석하여 천천히 가하고 상온에서 6시간 동안 교반한 후 감압 농축하여 컬럼크로마토그래피 (*n*-hexane : EtOAc = 1 : 1)로 분리하여 높은 R_f값을 갖는 화합물 (29) 240mg (수율 16%)와 낮은 R_f값을 갖는 화합물 (31) 147mg (수율 10%)을 얻었다.

화합물 29 : ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.02 (s, 1H), 6.80 (s, 2H), 5.82 (s, 1H), 4.52~4.64 (m, 1H), 4.60 (d, *J*=7.5 Hz, 1H), 4.16 (d, *J*=13.2 Hz, 1H), 4.02 (s, 3H), 3.76~3.87 (m, 2H), 3.46~3.86 (m, 1H), 2.31 (s, 6H), 1.98~2.29 (m, 2H), 0.82 (t, *J*=7.5 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50MHz, CDCl₃) δ (ppm) 169.6, 155.4, 148.3, 138.1, 136.4, 130.6, 126.1, 106.9, 72.8, 57.6, 54.6, 54.2, 51.4, 29.5, 20.9, 17.3, 12.1; IR (KBr) 3421, 2961, 2935, 2877, 2240 cm⁻¹; MS *m/z* (relative intensity) 408 (M⁺, 100%), 327(56%).

화합물 31 : ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.94 (s, 1H), 6.76 (s, 2H), 5.61 (s, 1H), 4.44~4.58 (m, 1H), 4.36 (d, *J*=12.2 Hz, 1H), 3.90 (s, 3H), 3.80~3.84 (m, 1H), 3.59~3.73 (m, 1H), 2.24 (s, 6H), 1.96 (q, *J*=7.3 Hz 2H), 0.45 (t, *J*=7.3 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.0, 155.7, 149.9, 138.6, 138.0, 130.7, 125.6, 107.2, 76.4, 63.2, 54.3, 53.1, 28.6, 20.9, 17.7, 11.2; IR (KBr) 3386, 2967, 2933, 2876 cm⁻¹; MS *m/z* (relative intensity) 408 (M⁺, 45%), 327(54%),

300(100%).

15. 화합물 30 및 32의 합성

화합물 (28) 178mg (0.5mmol)을 CCl₄ 1ml에 녹인 뒤 Br₂ 26 μ l (0.5mmol)을 CCl₄ 0.5ml에 희석하여 천천히 가하고 상온에서 6시간 동안 교반한 후 감압 농축하여 컬럼크로마토그래피 (*n*-hexane : EtOAc = 4 : 1)로 분리하여 높은 R_f값을 갖는 화합물 (30) 31mg (수율 14%)와 낮은 R_f값을 갖는 화합물 (32) 23mg (수율 11%)를 각각 흰색 고체 형태로 얻었다.

화합물 30 : m.p. 151-152 °C; ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.99 (s, 1H), 6.77 (s, 2H), 5.83 (s, 1H), 4.56~4.63 (m, 1H), 4.15 (d, *J*=13.0 Hz, 1H), 4.01 (s, 3H), 3.61~3.78 (m, 2H), 3.57 (t, *J*=6.9 Hz, 1H), 2.30~2.39 (m, 1H), 2.30 (s, 6H), 1.14 (d, *J*=6.0 Hz, 3H), 0.75 (d, *J*=6.9 Hz, 3H) ; ¹³C-NMR (50MHz, CDCl₃) δ (ppm) 169.9, 155.3, 150.7, 147.9, 138.1, 136.4, 130.6, 126.2, 110.1, 73.2, 57.5, 53.8, 51.6, 29.5, 25.7, 20.9, 20.2, 18.2, ; IR (KBr) 3536, 2973, 1663 cm⁻¹; MS *m/z* (relative intensity) 422 (M⁺, 16%), 420 (16%).

화합물 32 : m.p. 170-171 °C; ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.85 (s, 1H), 6.77 (s, 2H), 5.69 (s, 1H), 4.57~4.60 (m, 1H), 4.39 (d, *J*=14.6 Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.80~3.91 (m, 2H), 3.65 (t, *J*=9.7 Hz, 1H), 2.30~2.44 (m, 1H), 2.29 (s, 6H), 1.09 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.52 (d, *J*=7.5 Hz, 3H) ; ¹³C-NMR (50MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.6, 155.9, 149.9, 138.9, 138.5, 130.9, 125.8, 110.9, 76.9, 63.4, 54.2, 53.5, 29.0, 26.3, 21.3, 20.4, 18.2 ; IR (KBr) 3447, 2993, 2959, 2875 cm⁻¹;

MS m/z (relative intensity) 422 (M^+ , 24%), 420 (24%).

16. 화합물 (33), (35), (34), (36), (23), (24), (25) 및 (26)의 합성

화합물 (29) 220mg (0.49mmol)을 DMF에 녹인 뒤 NaN_3 176mg (2.15mmol)를 넣고 실온에서 20시간동안 저어준 후 ether를 넣고 수세한 후 MgSO_4 로 건조시키고 filter한 후 감압농축하였다. 그런 뒤 컬럼 크로마토그래피(*n*-hexane : ether = 1 : 2)로 분리하여 화합물 33 123mg (수율 62%)을 고체형태로 얻었다. 그런 뒤 화합물 33 57.8mg (0.15mmol)을 진한 HCl 1ml와 MeOH 1ml에 녹이고 1시간 동안 환류시킨 뒤 감압 농축시키고 컬럼크로마토그래피 (*n*-hexane : ether = 1 : 2)로 분리하여 화합물 (23) 36mg (수율 65%)을 고체형태로 얻었다. 화합물 (24), (25) 및 (26)도 화합물 (35), (36) 및 (34)를 거쳐 같은 방법으로 목표화합물을 얻을 수 있었다.

① 화합물 33 : $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ 7.01 (s, 1H), 6.78 (s, 2H), 5.80 (s, 1H), 4.45~4.50 (m, 1H), 4.02 (s, 3H), 3.54~3.86 (m, 3H), 2.31 (s, 6H), 1.93~2.17 (m, 2H), 0.80 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (50 MHz, CDCl_3) δ 168.3, 154.2, 147.2, 136.8, 135.0, 129.3, 124.7, 105.7, 71.3, 56.3, 52.9, 48.4, 48.3, 19.6, 15.9, 10.7; IR (KBr) 2958, 2107 (N_3) cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 369 (M^+ , 2%), 270 (49%)

② 화합물 35 : m.p. 136-137 °C; $^1\text{H-NMR}$ (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.02 (s, 1H), 6.83 (s, 2H), 5.67 (s, 1H), 4.45~4.52 (m, 1H), 4.19 (dd, $J=2.4, 2.6$ Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.73~3.96 (m, 3H), 2.32 (s, 6H), 2.03 (q, $J=7.5$ Hz, 2H), 0.54 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (50

MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.3, 156.2, 150.3, 138.1, 130.9, 125.9, 107.5, 63.1, 54.5, 51.5, 48.9, 21.2, 17.9, 11.5; IR (KBr) 3426, 2959, 2930, 2874, 2101 (N₃) cm⁻¹; MS m/z (EI) (relative intensity) 369 (M⁺, 0.4%), 341 (3%) 314 (61%)

③ 화합물 34 : m.p. 145-146 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.96 (s, 1H), 6.74 (s, 2H), 5.82 (s, 1H), 4.41~4.46 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.68~3.78 (m, 2H), 3.50~3.60(m, 1H), 2.27~2.38 (m, 1H), 2.27 (s, 6H), 1.11 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.72 (d, *J*=6.7 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.0, 155.5, 148.3, 138.2, 136.6, 130.7, 126.3, 110.3, 73.2, 57.8, 53.9, 50.0, 49.9, 25.9, 21.1, 20.3, 18.3; IR (KBr) 3453, 3035, 2093 (N₃) cm⁻¹; MS m/z (EI) (relative intensity) 383 (M⁺, 3%), 328 (50%)

④ 화합물 36 : m.p. 126-127 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.01 (s, 1H), 6.82 (s, 2H), 5.72 (s, 1H), 4.46~4.53 (m, 1H), 4.06 (dd, *J*=1.0, 2.6 Hz, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.71~3.93 (m, 3H), 2.35~2.49 (m, 1H), 2.32 (s, 6H), 1.11 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.57 (d, *J*=6.7 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.3, 155.8, 149.5, 138.6, 138.1, 130.7, 125.6, 110.7, 62.7, 57.8, 53.9, 51.4, 48.8, 25.9, 21.1, 20.1, 17.9; IR (KBr) 3424, 2958, 2925, 2870, 2093 (N₃) cm⁻¹; MS m/z (EI) (relative intensity) 383 (M⁺, 1%), 328 (77%)

⑤ 화합물 23 : m.p. 192-193 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.83 (s, 1H), 7.27 (s, 1H), 6.92 (s, 2H), 6.84 (s, 2H), 5.78 (s, 1H), 4.27~4.39 (m, 1H), 3.64~3.82 (m, 4H), 2.32 (s, 6H), 2.10~2.30 (m, 1H), 1.80~1.96 (m, 1H), 0.87 (t, *J*=7.5 Hz, 3H); ¹³C-NMR

(50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 162.6, 150.6, 144.5, 138.5, 136.3, 130.9, 126.2, 113.7, 72.9, 57.8, 50.5, 49.6, 21.3, 17.9, 12.3; IR (KBr) 3400, 3186, 3043, 2968, 2115 (N₃) cm⁻¹; MS m/z (EI) (relative intensity) 355 (M⁺, 2%), 298 (41%)

⑥ 화합물 24 : m.p. 188–189 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.58 (s, 1H), 7.03 (s, 1H), 6.88 (s, 2H), 5.65 (s, 1H), 4.30–4.42 (m, 1H), 4.24 (dd, *J*=2.4, 2.5 Hz, 1H), 3.88 (dd, *J*=3.4, 9.2 Hz, 1H), 3.78 (d, *J*=6.5 Hz, 2H), 2.33 (s, 6H), 1.78–2.18 (m, 2H), 0.63 (t, *J*=7.1 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 162.6, 150.7, 146.1, 138.9, 137.8, 131.0, 125.7, 113.7, 62.6, 51.1, 49.4, 21.3, 18.4, 11.3; IR (KBr) 3397, 3159, 3024, 2928, 2108 (N₃) cm⁻¹; MS m/z (EI) (relative intensity) 355 (M⁺, 1%), 327 (14%), 298 (23%)

⑦ 화합물 25 : m.p. 145–146 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.36 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.85 (s, 2H), 5.84 (s, 1H), 4.33–4.37 (m, 1H), 3.63–3.86 (m, 4H), 2.33 (s, 6H), 2.23–2.32 (m, 1H), 1.22 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.87 (d, *J*=6.7 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 197.9, 161.7, 150.9, 150.7, 143.9, 138.4, 136.3, 130.8, 126.3, 116.3, 111.4, 73.2, 57.7, 49.9, 49.6, 26.9, 21.2, 20.2, 17.9; IR (KBr) 3144, 3000, 2967, 2823, 2106 (N₃) cm⁻¹; MS m/z (EI) (relative intensity) 369 (M⁺, 22%), 313 (100%)

⑧ 화합물 26 : m.p. 198–199 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.37 (s, 1H), 7.02 (s, 1H), 6.87 (s, 2H), 5.69 (s, 1H), 4.36–4.38 (m, 1H), 4.09 (dd, *J*=3.8, 3.1 Hz, 1H), 3.85 (dd, *J*=3.1, 3.4 Hz, 1H), 3.76 (d, *J*=6.5 Hz, 2H), 2.33–2.42 (m, 1H), 2.33 (s, 6H), 1.19

(d, $J=6.9$ Hz, 3H), 0.69 (d, $J=6.9$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR(50 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 197.9, 162.0, 150.9, 151.0, 150.8, 145.7, 138.7, 137.9, 130.8, 125.6, 116.4, 62.3, 51.0, 49.3, 27.1, 21.2, 19.8, 17.5; IR (KBr) 3405, 3019, 2968, 2877, 2112 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 369 (M^+ , 2%), 313 (5%)

17. 화합물 37의 합성

알코올화합물 1.5g (4.9mmol), NaH 264mg (6.6mmol), 1-bromo-2-penten 585 μl (4.95mmol)을 DMF 20ml에 녹인 뒤 화합물 (27)와 같은 방법으로 반응시킨 뒤 컬럼크로마토그래피 (n -hexane : ether = 15 : 1)로 분리하여 화합물 (37) 1.65g (수율 98%)을 oil 형태로 얻었다.

^1H -NMR (200MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.10 (s, 2H), 6.86 (s, 1H), 5.53~5.62 (m, 3H), 4.11 (s, 1H), 4.08 (s, 1H), 3.98 (s, 3H), 3.95 (s, 3H), 2.60 (q $J=7.32$ Hz, 2H), 2.27 (s, 6H), 0.96~2.03 (m, 2H), 0.89~0.98 (m, 6H); ^{13}C -NMR (50MHz, CDCl_3) δ (ppm) 170.3, 165.3, 162.6, 139.5, 137.3, 128.9, 125.1, 124.6, 114.7, 80.7, 64.6, 54.2, 53.7, 21.1, 20.7, 17.2, 13.9, 13.1; IR(KBr) 3160, 3013, 2965, 2935, 2875 cm^{-1} ; MS m/z (relative intensity) 384 (M^+ , 100%)

18. 화합물 38의 합성

알코올화합물 400mg (1.26mmol), NaH 100mg (2.52mmol), 1-bromo-2-pentene 177 μl (1.5mmol)을 DMF 10ml에 녹인 뒤 화합물 (27)와 같은 방법으로 반응시킨 뒤 컬럼크로마토그래피 (n -hexane :

EtOAc = 10 : 1)로 분리하여 화합물 (38) 431mg (수율 91%)을 흰색 고체형태로 얻었다.

m.p. 71-72°C; ¹H-NMR (200MHz, CDCl₃) δ (ppm) 6.98 (s, 2H), 6.85 (s, 1H), 5.56~5.70 (m, 2H), 5.56 (s, 1H), 3.97 (s, 6H), 3.32~3.39 (m, 1H), 2.26 (s, 3H), 2.02~2.12 (m, 1H), 1.14 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 1.00 (d, *J*=7.4 Hz, 3H), 0.91 (d, *J*=7.3 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50MHz, CDCl₃) δ (ppm) 170.9, 166.2, 162.5, 139.9, 137.5, 136.5, 135.4, 128.8, 125.0, 124.3, 118.6, 82.1, 70.3, 54.4, 53.5, 25.4, 25.3, 21.3, 19.8, 19.5, 13.3 ; IR (KBr) 2992, 2961, 2870 cm⁻¹; MS *m/z* (relative intensity) 384 (M⁺, 20%), 315(100%).

19. 화합물 (39), (41), (40), (42), (43), (45), (44), (46), (27), (28), (29) 및 (30)의 합성

화합물 (37) 1.2g (3.33mmol)을 CH₃CN 15ml에 녹인 뒤 PhSeBr 865mg (3.66mmol)을 CH₃CN 3ml에 녹여 천천히 가하고 상온에서 6시간 동안 교반한 후 감압 농축하여 컬럼크로마토그래피 (*n*-hexane : EtOAc = 1 : 1)로 분리하여 높은 R_f값을 갖는 화합물 (39) 0.48g (수율 28%)와 낮은 R_f값을 갖는 화합물 (41) 1.1g (수율 64%)를 각각 흰색 고체형태로 얻었다. 그런 뒤 앞절의 방법으로 PhSe를 제거하여 화합물 (43) 및 (45)를 얻은 다음 산으로 가수분해하여 목표화합물 (27), (28)을 각각 얻을 수 있었다.

화합물 (38)도 상기와 같은 방법으로 반응시켜 화합물 (40), (42), (44) 및 (46)을 합성한 다음 산으로 가수분해시켜 화합물 (29) 및 (30)을 얻을 수 있었다.

① 화합물 39 : m.p. 174-175 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.65~7.69 (m, 2H), 7.17~7.27 (m, 3H), 6.93 (s, 1H), 6.69 (s, 2H), 5.73 (s, 1H), 4.49~4.54 (m, 1H), 4.36 (d, *J*=13.4 Hz, 1H), 4.03~4.09 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.75 (d, *J*=12.8 Hz, 1H), 2.24 (s, 6H), 1.92~2.14 (m, 2H), 1.23~1.74 (m, 2H), 1.02 (t, *J*=7.5 Hz, 3H), 0.76 (t, *J*=7.3 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 169.3, 155.8, 149.3, 138.1, 136.7, 132.6, 130.5, 129.3, 128.8, 126.7, 126.1, 106.1, 72.5, 58.0, 54.1, 53.4, 48.4, 23.4, 21.0, 17.4, 13.7, 12.4; IR (KBr) 3051, 2961, 2924, 2874 cm⁻¹; MS *m/z* (EI) (relative intensity) 513 (M⁺, 3%), 355 (5%), 272 (100%)

② 화합물 41 : m.p. 177-178 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.45~7.49 (m, 2H), 7.08~7.13 (m, 3H), 6.88 (s, 1H), 5.62 (s, 1H), 4.64~4.66 (m, 1H), 3.93~4.27 (m, 2H), 3.89 (s, 4H), 2.14 (s, 6H), 1.91~2.03 (m, 2H), 1.55~1.74 (m, 2H), 0.94 (t, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.57 (t, *J*=7.3 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 169.3, 156.3, 150.5, 149.9, 138.2, 137.4, 131.4, 130.3, 130.2, 129.3, 128.5, 126.0, 125.6, 106.4, 75.6, 63.2, 53.8, 46.1, 24.0, 20.7, 17.6, 11.6, 11.4; IR (KBr) 3446, 2963, 2931, 2873 cm⁻¹; MS *m/z* (EI) (relative intensity) 513 (M⁺, 1%), 355 (4%), 272 (100%)

③ 화합물 40 : m.p. 169-170 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.68~7.73 (m, 2H), 7.21~7.32 (m, 3H), 6.97 (s, 1H), 6.71 (s, 2H), 5.74 (s, 1H), 4.55 (t, *J*=3.8 Hz, 1H), 4.38 (d, *J*=13.0 Hz, 1H), 4.01~4.10 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.72~3.80 (m, 1H), 2.27 (s, 1H), 1.93~2.16 (m, 2H), 1.63~1.75 (m, 2H), 1.05 (t, *J*=3.8 Hz, 3H), 0.78

(t, $J=7.5$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 197.8, 169.6, 155.7, 148.9, 138.1, 136.8, 132.7, 130.5, 129.4, 128.9, 126.8, 126.2, 109.4, 72.9, 58.1, 53.7, 53.7, 48.5, 25.8, 23.6, 21.1, 20.5, 18.4, 13.8; IR (KBr) 2962, 2931, 2876, 2237 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 526 (M^+ , 1%), 369 (7%), 286 (100%)

④ 화합물 42 : m.p. 129–130 $^{\circ}\text{C}$; ^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.53–7.58 (m, 2H), 7.18–7.22 (m, 3H), 6.99 (s, 1H), 6.94 (s, 2H), 5.68 (s, 1H), 4.71–4.74 (m, 1H), 4.20–4.28 (m, 2H), 3.94–3.99 (m, 3H), 2.24 (s, 6H), 1.84–2.26 (m, 2H), 1.42–1.78 (m, 2H), 1.01 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 0.69 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 197.8, 169.8, 156.6, 149.8, 138.5, 137.6, 131.9, 130.6, 130.3, 128.8, 126.4, 125.8, 110.2, 77.6, 62.9, 54.3, 53.7, 46.2, 26.1, 21.0, 20.2, 18.4, 12.1; IR (KBr) 3446, 2962, 2874 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 526 (M^+ , 3%), 369 (14%), 286 (100%)

⑤ 화합물 43 : m.p. 134–135 $^{\circ}\text{C}$; ^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.99 (s, 1H), 6.77 (s, 2H), 5.78 (s, 1H), 4.35–4.41 (m, 1H), 4.00 (s, 3H), 3.68–3.77 (m, 2H), 2.29 (s, 6H), 1.92–2.12 (m, 2H), 1.80 (q, $J=7.3$ Hz, 2H), 1.26–1.49 (m, 2H), 0.94 (t, $J=6.9$ Hz, 3H), 0.79 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 169.3, 155.9, 148.9, 138.2, 137.3, 130.5, 126.3, 106.4, 72.7, 58.9, 54.1, 51.4, 33.5, 21.1, 19.2, 17.4, 13.7, 12.4; IR (KBr) 3448, 2950, 2873 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 356 (M^+ , 30%), 272 (39%), 222 (100%)

⑥ 화합물 45 : ^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 7.00 (s, 1H), 6.87 (s, 2H), 5.67 (s, 1H), 4.38–4.44 (m, 1H), 4.04 (d, $J=1.0$ Hz,

1H), 3.97 (s, 3H), 3.83 (d, $J=1.6$ Hz, 1H), 2.31 (s, 3H), 2.02 (d, $J=7.3$ Hz, 1H), 2.31 (s, 6H), 1.84~2.04 (m, 2H), 1.45 (q, $J=7.7$ Hz, 2H), 0.95 (t, $J=6.9$ Hz, 3H), 0.51 (t, $J=7.3$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 169.7, 155.9, 150.9, 150.5, 138.8, 138.6, 130.6, 125.9, 124.9, 106.4, 76.2, 64.7, 54.1, 52.6, 32.5, 21.1, 19.2, 17.7, 13.7, 11.5; IR (KBr) 2961, 2931, 2873 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 356 (M^+ , 58%), 314 (39%), 222(75%)

⑦ 화합물 44 : ^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.98 (s, 1H), 6.76 (s, 2H), 5.82 (s, 1H), 4.35~4.42 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.71 (s, 2H), 2.20~2.38 (m, 1H), 2.29 s, 6H), 1.67~1.86 (m, 2H), 1.33~1.49 (m, 2H), 1.14 (d, $J=6.9$ Hz, 3H), 0.96 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 0.73 (d, $J=6.9$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR (50 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 169.8, 155.8, 148.6, 138.2, 137.4, 130.6, 126.4, 109.7, 73.2, 58.9, 53.8, 51.5, 33.6, 29.7, 25.9, 21.2, 20.6, 19.4, 18.5, 13.9; IR (KBr) 3449, 2965, 2874 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 370 (M^+ , 19%), 236 (100%)

⑧ 화합물 46 : ^1H -NMR (200 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.99 (s, 1H), 6.83 (s, 2H), 5.70 (s, 1H), 4.43 (dd, $J=1.8, 2.0$ Hz, 1H), 4.04 (dd, $J=2.8, 2.6$ Hz, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.79 (dd, $J=2.6, 2.8$ Hz, 1H), 2.42~2.49 (m, 1H), 2.30 (s, 6H), 1.70~2.17 (m, 2H), 1.34~1.48 (m, 2H), 1.09 (d, $J=6.9$ Hz, 3H), 0.93 (t, $J=7.2$ Hz, 3H), 0.52 (d, $J=6.7$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR(50 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 170.0, 155.9, 150.2, 138.9, 138.7, 130.6, 125.8, 109.8, 64.6, 53.8, 52.7, 32.6, 26.0, 21.2, 20.3, 19.3, 18.1, 13.8; IR (KBr) 3445, 2965, 2934, 2874 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 370 (M^+ , 77%), 328 (64%), 236 (85%), 151

(100%)

⑨ 화합물 27 ; m.p. 203-204 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 7.27 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.84 (s, 2H), 5.75 (s, 1H), 4.21~4.26 (m, 1H), 3.72 (d, *J*=1.8 Hz, 1H), 3.65 (d, *J*=1.8 Hz, 1H), 2.32 (s, 6H), 2.16~2.27 (m, 1H), 1.64~1.95 (m, 3H), 1.36~1.48 (m, 2H), 0.98 (t, *J*=7.1 Hz, 3H), 0.86 (t, *J*=7.5 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 163.1, 150.8, 145.1, 138.3, 136.9, 130.6, 126.1, 113.1, 72.7, 58.9, 1.1, 33.6, 29.6, 21.3, 19.2, 17.8, 13.7, 12.4; IR (KBr) 3147, 2969, 2934, 2874 cm⁻¹; MS *m/z* (EI) (relative intensity) 342 (M⁺, 75%), 299 (18%)

⑩ 화합물 28 : ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 10.02 (s, 1H), 6.99 (s, 1H), 6.84 (s, 2H), 5.76 (s, 1H), 4.21~4.27 (m, 1H), 3.72 (d, *J*=2.0 Hz, 1H), 3.68 (d, *J*=1.7 Hz, 1H), 2.32 (s, 6H), 2.17~2.28 (m, 1H), 1.85~1.99 (m, 3H), 1.36~1.48 (m, 2H), 0.98 (t, *J*=7.1 Hz, 3H), 0.86 (t, *J*=7.3 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 162.9, 150.7, 145.2, 138.4, 136.9, 130.7, 126.2, 113.1, 72.8, 58.9, 51.2, 33.6, 29.7, 21.3, 19.3, 17.9, 13.7, 12.4; IR (KBr) 3402, 3147, 2970, 2875 cm⁻¹; MS *m/z* (EI) (relative intensity) 342 (M⁺, 100%), 299(28%)

⑪ 화합물 29 : m.p. 192-193 °C; ¹H-NMR (200 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 9.35 (s, 1H), 6.96 (s, 1H), 6.84 (s, 2H), 5.81 (s, 1H), 4.24 (d, *J*=7.6 Hz, 1H), 3.62~3.67 (m, 2H), 2.32 (m, 1H), 2.32 (s, 6H), 1.68~2.02 (m, 2H), 1.32~1.47 (m, 2H), 1.23 (d, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.97 (t, *J*=6.9 Hz, 3H), 0.83 (d, *J*=6.7 Hz, 3H); ¹³C-NMR (50 MHz, CDCl₃) δ (ppm) 161.8, 150.7, 144.6, 138.3, 137.1, 130.6, 126.5, 126.3, 115.6,

73.1, 58.8, 51.2, 46.74, 33.58, 26.9, 21.3, 20.3, 19.3, 18.0, 13.8.; IR (KBr) 3419, 3155, 3013, 2963, 2876 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 356 (M^+ , 100%)

② 화합물 30 : m.p. 183-184 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 9.74~9.77 (m, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.86 (s, 1H), 5.66 (s, 1H), 3.94 (dd, $J=2.1, 2.1$ Hz, 1H), 3.81 (dd, $J=3.0, 3.1$ Hz 1H), 2.32~2.42 (m, 1H), 2.29 (s, 6H), 1.77~1.88 (m, 2H), 1.30~1.38 (m, 2H), 1.16 (d, $J=6.8$ Hz, 3H), 0.93 (t, $J=7.1$ Hz, 3H), 0.65 (d, $J=6.7$ Hz, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ (ppm) 162.2, 150.8, 146.4, 138.7, 138.6, 130.6, 125.7, 115.5, 76.3, 65.1, 52.2, 32.9, 27.0, 21.2, 19.8, 19.1, 17.6, 13.7; IR (KBr) 2962, 2870 cm^{-1} ; MS m/z (EI) (relative intensity) 356 (M^+ , 100%)

20. 화합물 47 및 48의 합성

화합물 (49) 15mg (0.03mmol), Raney-Nickel (excess)을 EtOH 2ml 에 녹인 뒤 상온에서 4시간동안 반응시킨 뒤 celite pad를 통하여 filter 한후 감압농축하였다. 이어서, 컬럼크로마토그래피 (n -hexane : EtOAc = 1 : 1)로 분리하여 화합물 (47)을 7mg (수율 65%)을 흰색고체로 얻었다. 화합물 (50)도 같은 방법으로 반응시켜 화합물 (48)을 12mg (수율 60%)를 흰색 고체로 얻었다.

화합물 47 : m.p. 182-183 $^{\circ}\text{C}$; $^1\text{H-NMR}$ (200MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.97 (s, 1H), 6.76 (s, 2H), 5.83 (s, 1H), 4.54~4.57 (m, 1H), 3.99 (s, 3H), 3.82 (d, $J=12.6$ Hz, 1H), 3.49 (d, $J=12.2$ Hz, 1H), 2.20~2.37 (m, 1H), 2.28 (s, 6H), 1.47 (d, $J=6.3$ Hz 3H), 1.14 (d, $J=6.9$ Hz, 3H),

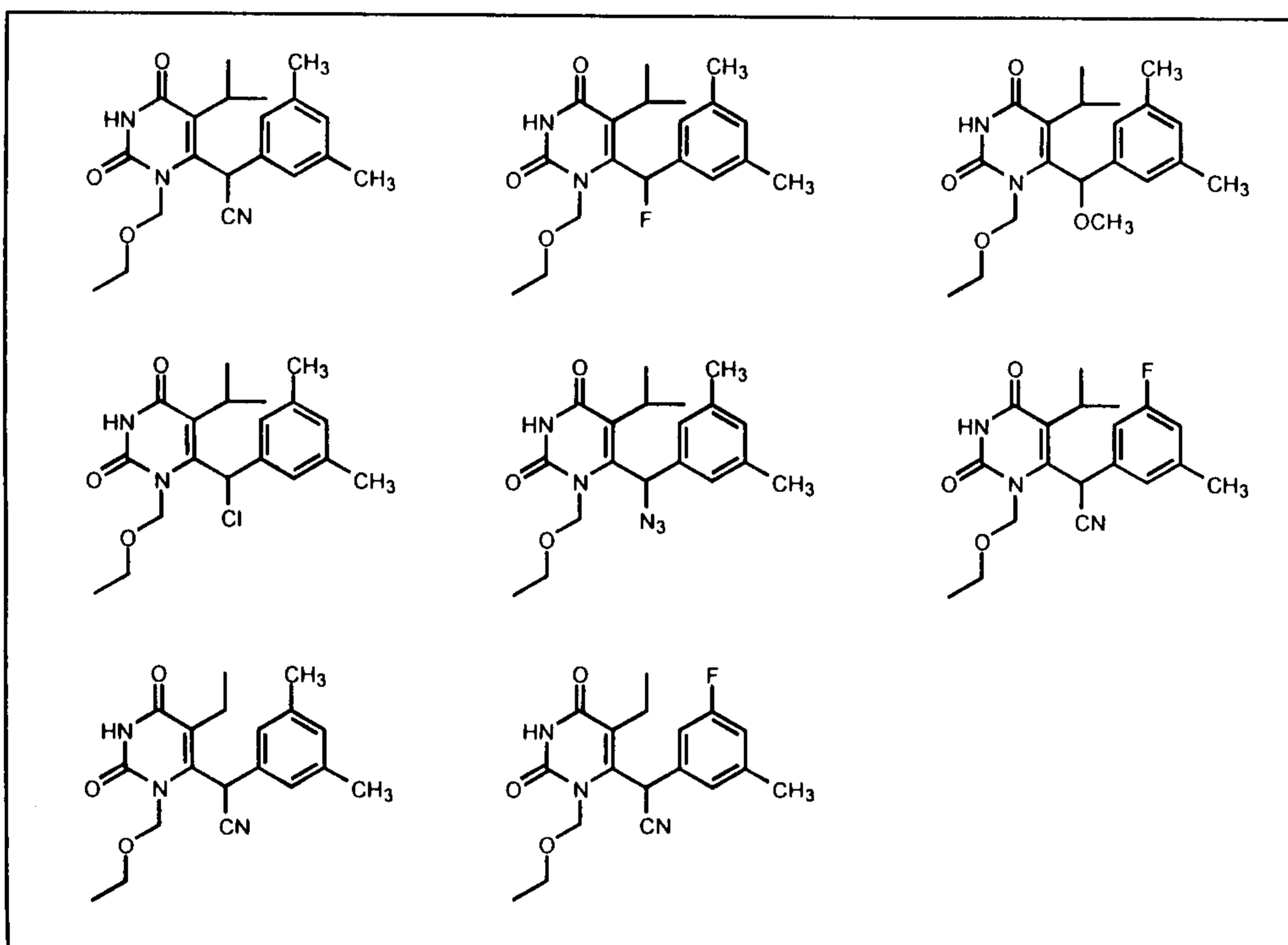
0.73 (d, $J=6.8$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR (75MHz, CDCl_3) δ (ppm) 169.8, 155.8, 148.5, 138.2, 137.2, 130.6, 126.4, 109.9, 73.1, 62.2, 53.8, 47.6, 29.6, 25.9, 21.2, 20.5, 18.5, 18.5; IR (KBr) 3447, 2961, 2925, 2883 cm^{-1} ; MS m/z (relative intensity) 342 (M^+ , 71%), 151(100%)

화합물 48 : m.p. 161-162 $^{\circ}\text{C}$; ^1H -NMR (200MHz, CDCl_3) δ (ppm) 6.99 (s, 1H), 6.84 (s, 2H), 5.72 (s, 1H), 4.57~4.64 (m, 1H), 3.97 (s, 3H), 3.79~3.96 (m, 2H), 2.41~2.51 (m, 1H), 2.30 (s, 6H), 1.53 (d, $J=6.5$ Hz 3H), 1.11 (d, $J=6.9$ Hz, 3H), 0.54 (d, $J=6.9$ Hz, 3H); ^{13}C -NMR (75MHz, CDCl_3) δ (ppm) 170.1, 155.9, 150.2, 138.7, 138.6, 130.6, 125.8, 109.9, 76.3, 67.4, 53.8, 48.7, 25.9, 21.2, 20.2, 18.0, 17.4; IR (KBr) 2987, 2922, 2872 cm^{-1} ; MS m/z (relative intensity) 342 (M^+ , 75%), 151(100%)

제 3절 연구결과

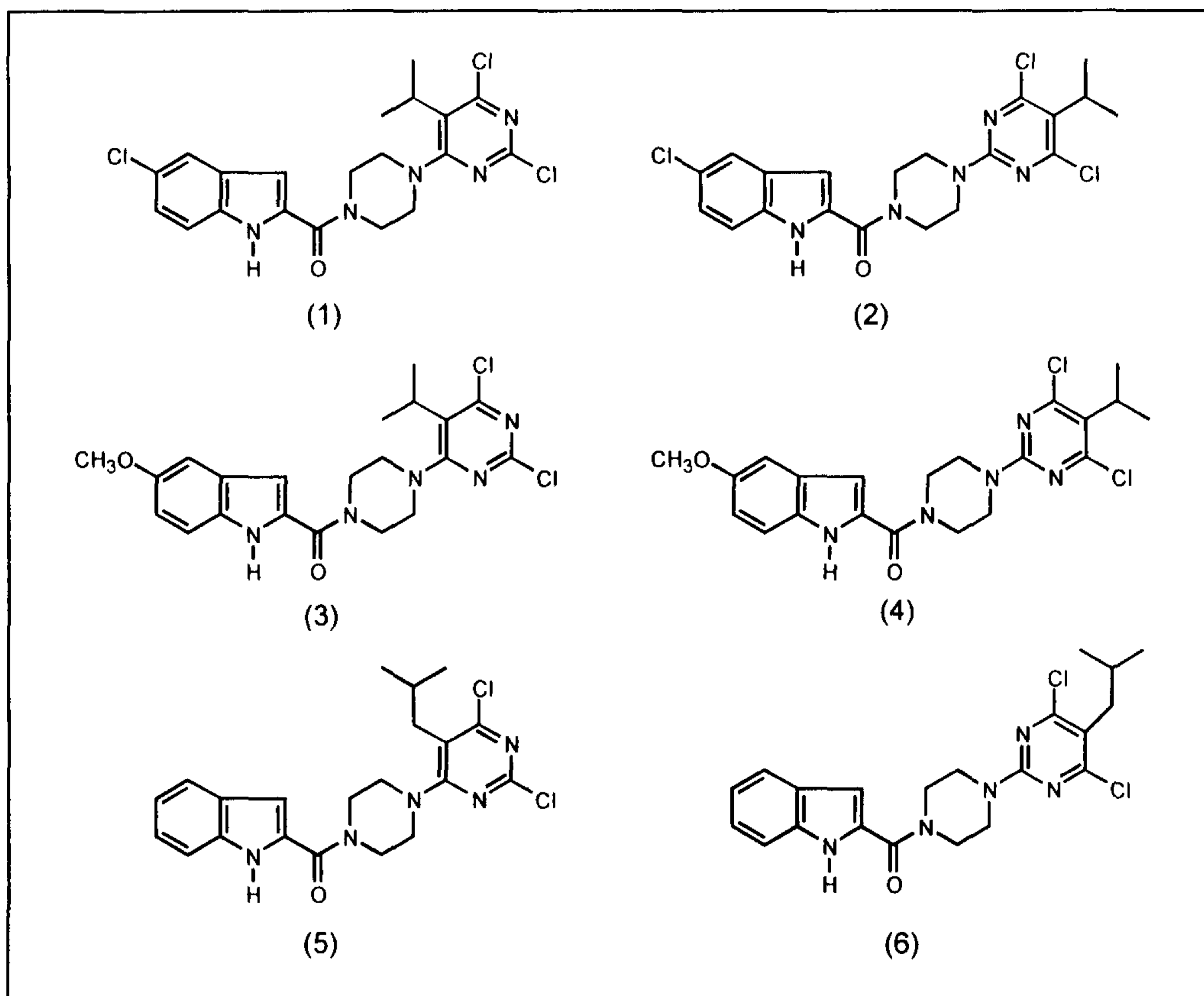
가. 일반식(I)의 화합물

하기의 8가지 화합물들을 국내특허출원 하였다.



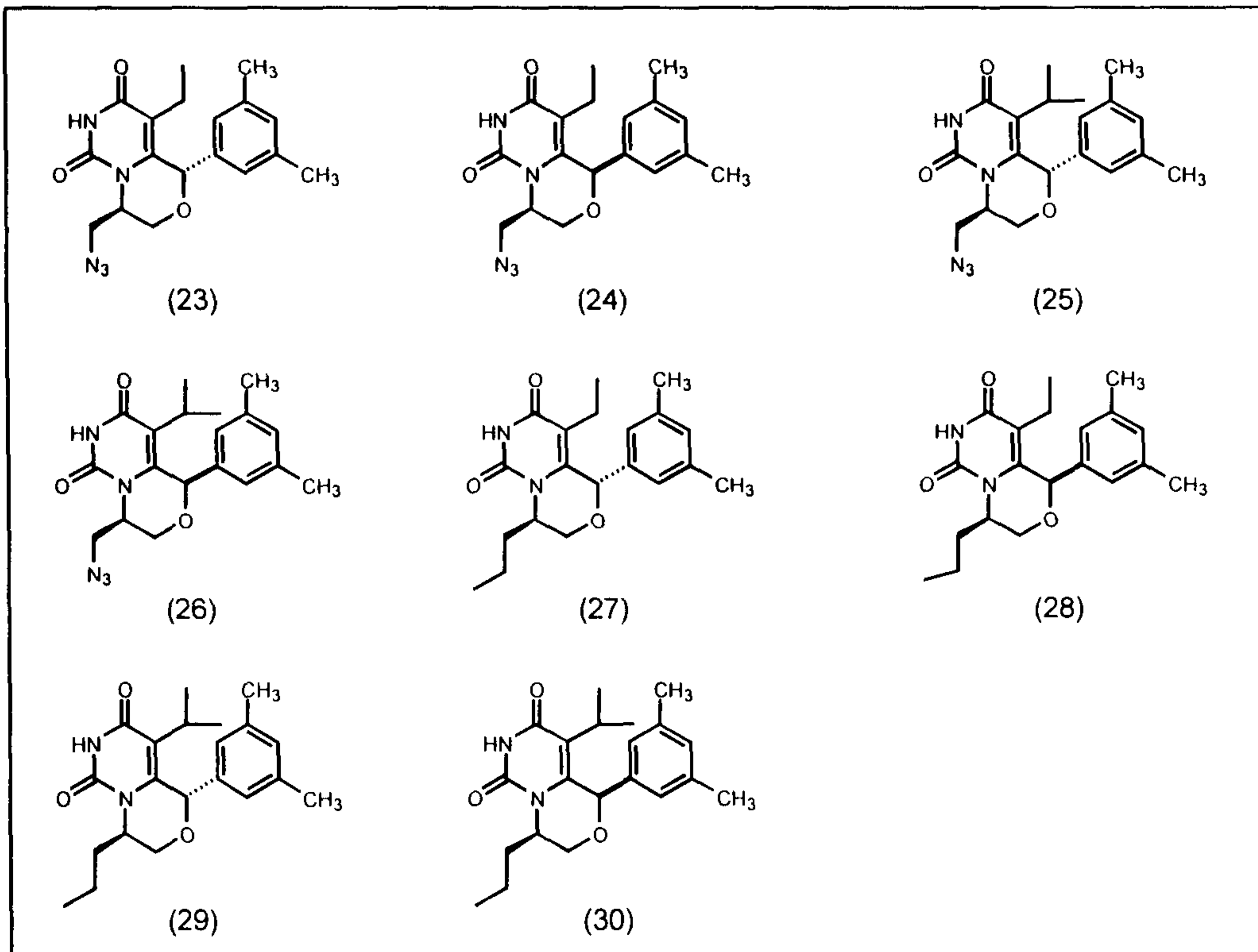
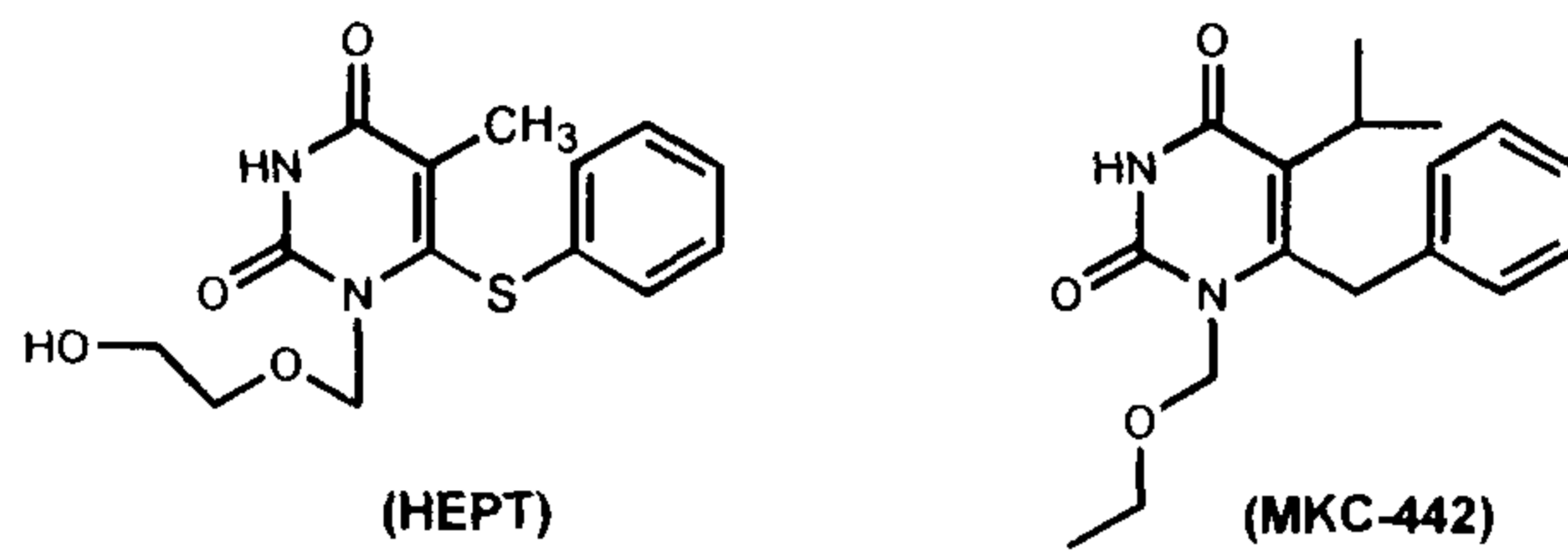
나. 일반식(II)의 화합물

하기의 6가지 화합물들을 HIV-1에 대하여 screening 하였으나 활성도가 전혀 없는 것으로 밝혀졌다.



다. 일반식(III)의 화합물

본 연구에서 합성된 하기의 8가지 화합물들은 original compound 인 HEPT 및 이의 유도체인 MKC-442와 비교할 때에 구조적으로 큰 변화를 주었어도 활성도를 유지하고 있으므로 앞으로 새로운 구조의 화합물을 디자인하는데 좋은 lead compound가 될 수 있을 것으로 기대된다.



제 4장 연구개발목표 달성도 및 대외기여도

국내특허출원도 하였고 lead compound도 발굴되었으므로 본 연구 개발목표는 충분히 달성된 것으로 판단된다.

또한 1998년도 추계 대한화학회에 발표기도 하였으므로 대외적으로도 신약개발연구에 일조한 것으로 사려된다.

제 5장. 연구개발의 활용계획

본 연구에서 획득한 중간체화합물들 및 lead compound는 molecular modeling을 통하여 HIV-1에 활성이 강한 새로운 화합물을 디자인하는 데 활용할 예정이며 연구결과들은 국내외학술지에 발표하고자 한다.

제 6 장 참고문헌

1. E. De Clercq, J. Med. Chem., 38, 2491(1995)
2. E. De Clercq, Clinical Microbiology Reviews, Vol. 8, No. 2, P200-239, Apr. 1995
3. a) M. A. Nowak et al, Scientific American, P42-49, 1995
b) E. De Clercq, Antiviral Res., 38, 153(1998)
4. A. Mazumder et al, Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 90, 2399(1993)
5. T. R. Burke, Jr. et al, J. Med. Chem., 38, 4171(1995)
6. M. C. Nicklaus et al, J. Med. Chem., 40, 920, 930, 937, 942(1997)
7. a) Drugs of the future, 22(4), 371-377(1997)
b) A. Molla et al, Antiviral Res., 39, 1(1998)
8. D. L. Romero et al, J. Med. Chem., 37, 999(1994)
9. D. L. Romero et al, J. Med. Chem., 39, 3769(1996)
10. M. J. Genin et al, J. Med. Chem., 39, 5267(1996)
11. K. Danel et al, J. Med. Chem., 41, 191(1998)
12. K. Danel et al, Synthesis, 7, 1021(1997)

**Cholesterol 생합성에 관여하는
효소의 조절물질 탐색**
**Studies on Inhibitor of Enzymes
related to Biosynthesis of Cholesterol**

담당연구과제책임자 : 박 태 호
연구 원 : 이 상 호
하 영 환
편 성 재

여 백

요 약 문

I. 제 목

Cholesterol 생합성에 관여하는 효소의 조절물질의 탐색

II. 연구개발의 목적 및 필요성

1) 연구개발의 목적

우수한 약효, 뛰어난 경구 흡수, 장기복용시 안전성 확보, 적은 만성독성, 우수한 조직(특히 간) 선택성을 갖는 고지혈증 치료제 후보 물질을 도출한다.

2) 연구개발의 필요성

가. 고지혈증 치료용 효소 저해제 의 개발역사가 짧음 - 세계 수준 진입이 용이

나. 분자 설계, 합성기술, 물질구조, 분석기술, 물질분리 및 정제 기술, 활성검색기술, 안전성 검색기술, 약리시험 등의 핵심요소기술의 총합체

다. 국내 의약품 개발기술을 크게 향상시킬 수 있음.

라. 국가 보건의료기술의 하부구조(Infrastructure)구축

마. 세계시장으로의 경쟁적 참여

바. 세계는 고령화 사회로 진입 - 인구의 고령화로 인한 과지질 발생을 억제 - 삶의 질 향상에 기여 - 보건 복지

III. 연구개발의 내용 및 범위

전년도에 창출한 Hydantoin moiety를 광학이성질체의 합성과 새로운 고지혈증 치료제로서의 ACAT 저해제 선도 화합물의 설계를 위해 문헌 조사, 자료수집 등을 문헌자료집으로 제작하였으며, Urea type의 ACAT 저해제 화합물을 설계하고 합성하였다.

분자 설계된 화합물의 신규성, 특허성, 합성기술을 Internet을 이용한 종합정보, WPI등 특허정보 및 관련된 저해제의 자료를 수집하여 분석하고, 콜레스테롤의 흡수에 관여하는 효소로서 콜레스테롤을 에스테르화시키는 ACAT의 활성을 저해하는 저해제를 분자 설계하여 약효가 우수하고 경구 흡수가 뛰어나며 장기 복용시 안전성이 확보되고 만성독성이 적은 ACAT 저해제의 후보물질을 도출하기 위하여 다수의 신규한 Urea type의 화합물을 합성하고, 이들의 *In vitro* 및 *in vivo* 약효 검색을 실시하였다.

IV. 연구 개발 결과

- 1) 1,2차 연도에 보고한 순수한 광학이성질 Hydantoin 유도체의 진보된 약효 및 약리시험을 수행하기 위하여 시료를 다량합성하였다.
- 2) Urea type의 ACAT 저해제 화합물을 설계.합성하였으며, 그 대조화합물로서 FR186054를 합성하여 합성기술을 확립하였고, 20개의 신규한 화합물을 설계 및 합성하여 현재 *in vitro* 활성을 진행하고 있으며, 2건의 특허를 출원하였으며, 1건의 특허를 준비중에 있다.

V. 연구 개발 결과의 활용 계획

- 1) 특허출원으로 기술 보호
- 2) 축적된 Know-how를 다른 분야의 효소저해제 신약개발에 활용함.
- 3) 분자설계, 합성기술, 물질구조, 물질분리 및 정제기술, 활성검색기술, 안전성 검색기술, 약리시험 등의 핵심요소기술을 기업체에 전파 함.

SUMMARY

I. Title

Studies on Inhibitors of Enzymes Related to Biosynthesis of Cholesterol

II. The Purpose and Importance of the Research

1) The Purpose of the Research

The generation of candidates of hypolipaeamic agent which have excellent activity, good oral absorption, safety in long-term administration, less chronical toxicity and excellent tissue-selectivity.

2) The Importance of the Research

- A. Activation of domestic pharmaceutical industry
- B. Improvement of the domestic technology in the development of pharmaceuticals
- C. Construction of infrastructure of health and medical technology
- D. Rising of Competition to the world pharmaceutical market
- E. Improvment of life-quality

III. The Contents and Scope of the Research

- A. The collection of the information and data on the inhibitor of enzymes related to the biosynthesis and absorption of cholestrol
- B. Molecular design based on the information and data of the inhibitor of enzymes

- C. Synthesis and separation of the designed molecules
- D. Measurement of biological activity of the synthesized compounds

IV. The Results of the Research

- A. Scale-up synthesis of the optically active hydantoin derivatives
- B. Synthesis of 20 novel urea-type compounds having inhibitory activity against ACAT
- C. Application of two patents and under application of one patent containing the above substance matter

V. Proposal for its Use

- A. Application of the know-how resulted from the research to that of the other enzyme inhibitors
- B. Propagation of essential technology and informations resulted from the research to industry

CONTENTS

Chapter 1. Introduction -----	145
Chapter 2. State of the Art -----	148
Chapter 3. The Details and Results of the Research -	152
Chapter 4. The Achievement of the Research ---	186
Chapter 5. The Use of the Results -----	187
Chapter 6. Reference -----	188

여 백

목 차

요 약 문 -----	137
제 1 장 서론 -----	145
제 2 장 국내외 기술개발 현황 -----	148
제 3 장 연구개발 수행내용 및 결과 -----	152
제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 대외 기여도 --	186
제 5 장 연구개발 결과의 활용계획 -----	187
제 6 장 참고 문헌 -----	188

여 백

제 1 장 서 론

Cholesterol 생합성의 주요 단계에 관여하는 효소들은 Figure 1에서 보는 것처럼 HMG-Co A reductase, Squalene synthetase, Squalene epoxidase, 2,3-Oxidosqualene cyclase, Lanosterol 14 α -demethylase, Acylcholesterol acyltransferase 등이 알려져 있다.^{1, 2, 3, 4, 5}

혈액중의 지질농도가 증가된 고지혈증은 동맥경화등의 중성지질, 콜레스테롤, 인지질 등 혈관장애를 중심으로 하는 성인병 질환의 원인이 되므로 예방 뿐만아니라 치료의 대상으로서 주목을 받고 있다.

현재 가장 각광을 받고 있는 고지혈증 치료제 연구분야는 간세포에 있는 콜레스테롤 생합성 율속 효소인 HMG-Co A reductase의 저해제이며 그 다음으로는 세포내의 콜레스테롤의 에스테르화를 조절하는 Acylcholesterol acyltransferase (ACAT) 저해제, 콜레스테롤의 생합성 후반기에 관련되어 있는 Squalene synthetase, Squalene epoxidase, 2,3-Oxidosqualene cyclase등의 저해제 개발 연구가 주목을 받고 있다.

HMG-Co A reductase inhibitor는 간세포내에서 콜레스테롤이 합성될 때 초기 율속단계에 관여하는 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Co A(HMG-Co A) reductase의 활성을 억제함으로써 간세포내에서 담즙산의 합성에 필요한 콜레스테롤의 저하를 일으키고 이에 대한 보상으로 간세포 표면에 저밀도 지단백 수용체인 LDL receptor수를 증가시켜 혈청내 콜레스테롤의 간세포내로의 유입을 증가시킴으로서 혈청내의 콜레스테롤을 감소시킨다. 이들 약제는 현재까지 개발된 약제중 혈청내 콜레스테롤 저하 효과가 강력한 것으로 알려져 있으나, 이들은 콜레스테롤의 생합성을 억제하는데는 효과적이나 으식물로부터 유입되는 콜레스테롤의 양을 조절하지는 못한다. 이와같이 으식물로부터 유입되는 콜레스테롤의 조절은 생합성조절과 함께 혈청내 콜레스테롤치의 조절에 매우 높은 효과를 나타낼 수 있다.

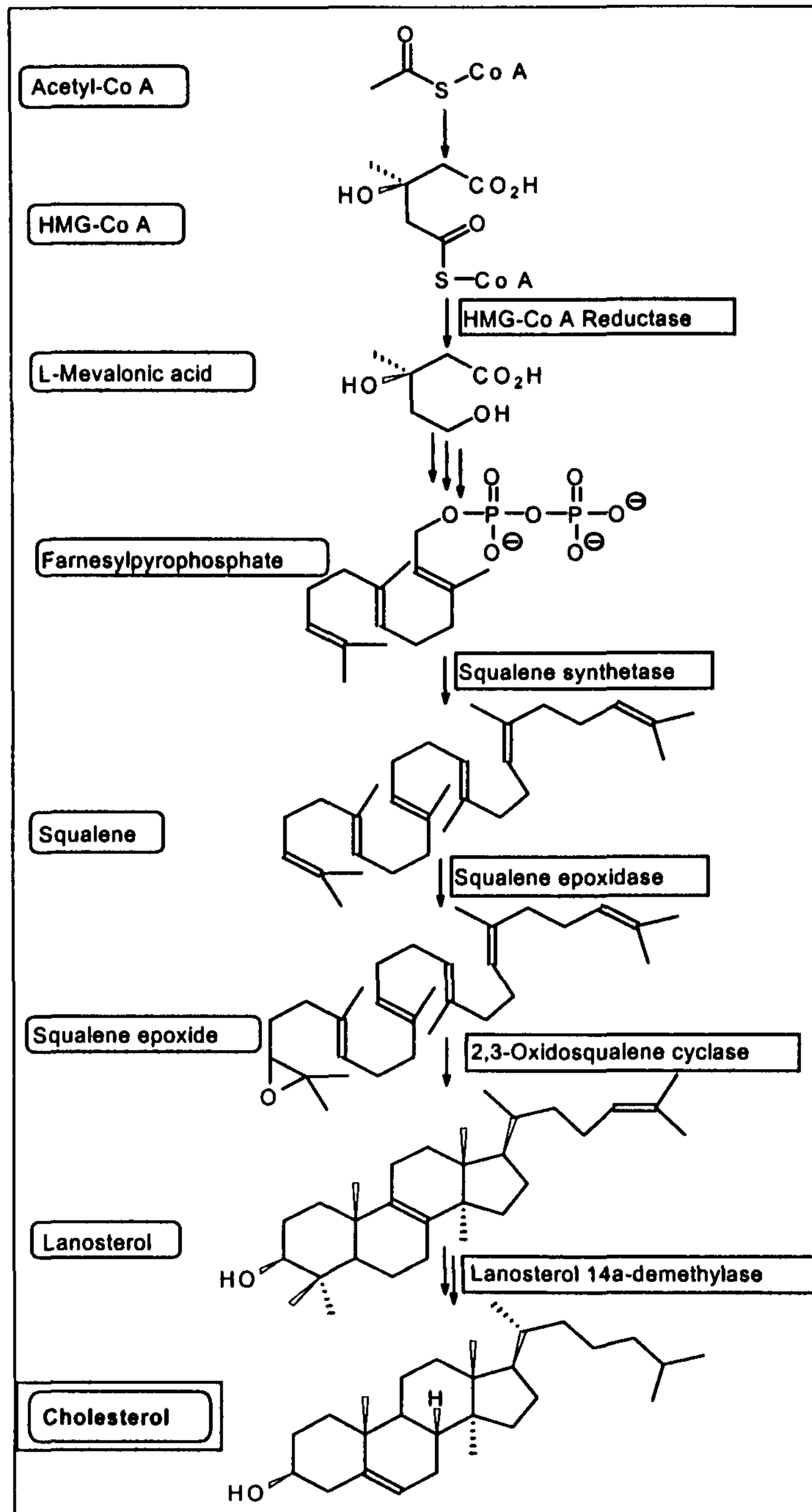
ACAT(Acyl CoA:Cholesterol O-Acyltransferase)는 콜레스테롤의 흡수에 관여하는 효소로서 ACAT inhibitor는 혈청내의 콜레스테

롤치의 저하뿐만 아니라 동맥경화증의 직접적인 치료효과도 기대할 수 있다. ACAT inhibitor의 개발연구에서 비교적 우수한 연구결과들이 보고되고 있으나, 제품화된 것은 아직 없는 초기단계에 있으며 최근 연구가 매우 활발하게 진행되고 있다. ACAT의 binding site에 대해 명확한 규명등이 이루어져 않고, 용해도 및 생체이용율등에 대한 개선의 여지등이 많이 남아 있으므로 기존의 연구결과를 기초로 하여 연구를 진행할 경우 경쟁력이 있을 뿐만 아니라 연구 개발의 성공가능성도 높을 것으로 사료된다.

본 연구에서는 콜레스테롤 생합성의 율속 단계인 HMGCo A reductase와 콜레스테롤의 에스테르화에 관여하는 ACAT의 활성을 저해하는 저해제를 분자설계하기 위해 생리활성과 구조간의 정성적 및 정량적 상관관계를 도출하고 이들 바탕으로 효소 저해작용과 경구흡수, 간 선택성, 안전성을 확보할 수 있는 구조의 화합물을 분자설계하여 약효가 우수하고, 경구 흡수가 뛰어나며, 장기 복용시 안전성이 확보되고, 만성 독성이 적은 효소 저해제의 후보물질을 도출하는 것을 목표로 하였다.

또한 본 연구의 신규성과 독창성을 확보하기 위하여 Internet을 이용하여 종합정보를 수집하고, WPI등 특허정보로부터 신규성, 진보성, 특허성에 관한 정보를 수집하며, 전문학회 및 전문학술지의 활용하여 정성적 및 정량적 자료 및 합성 기술을 조사하였다.

Figure 1 Biosynthesis of Cholesterol

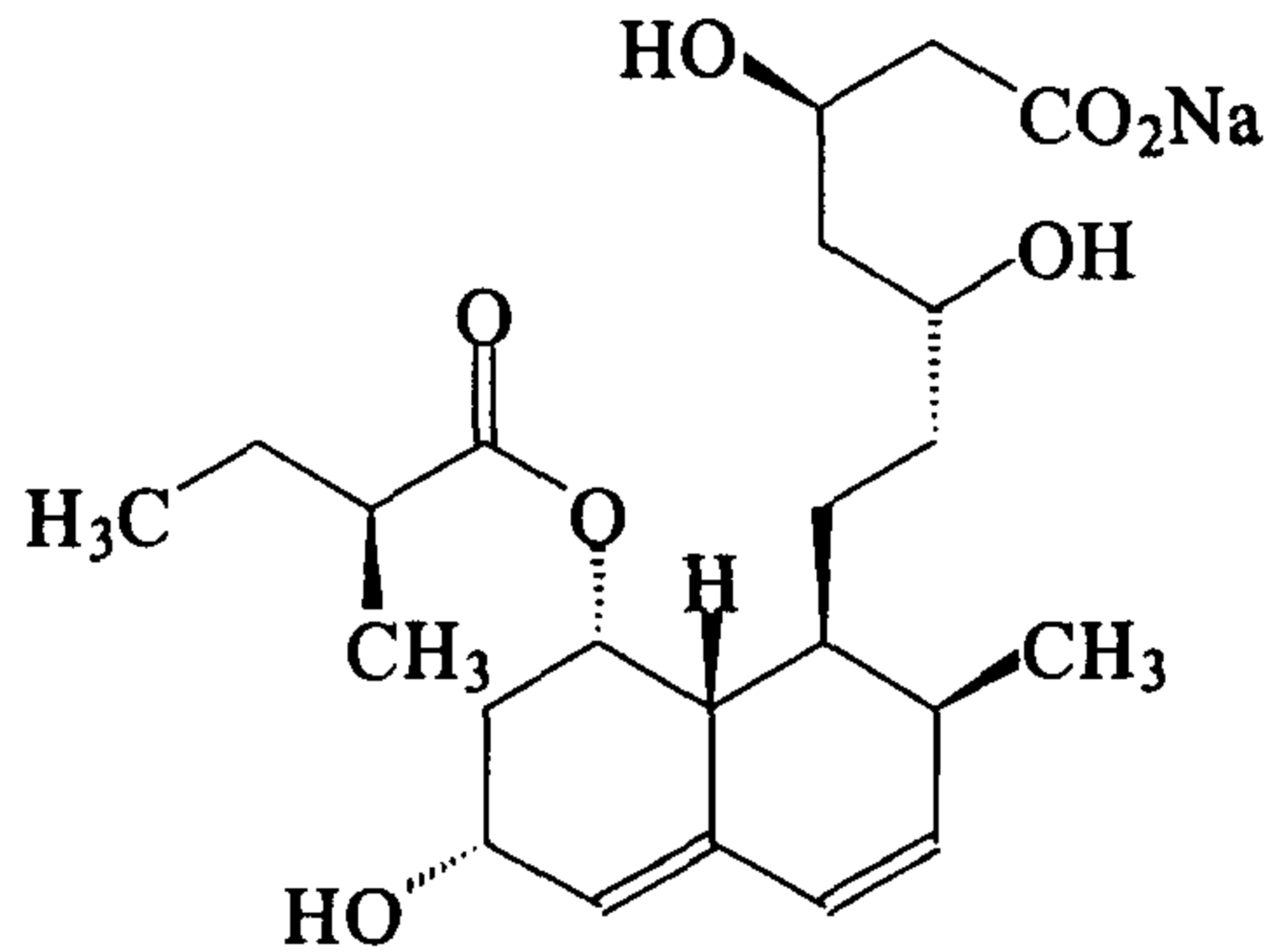


제 2 장 국내외 기술개발 현황

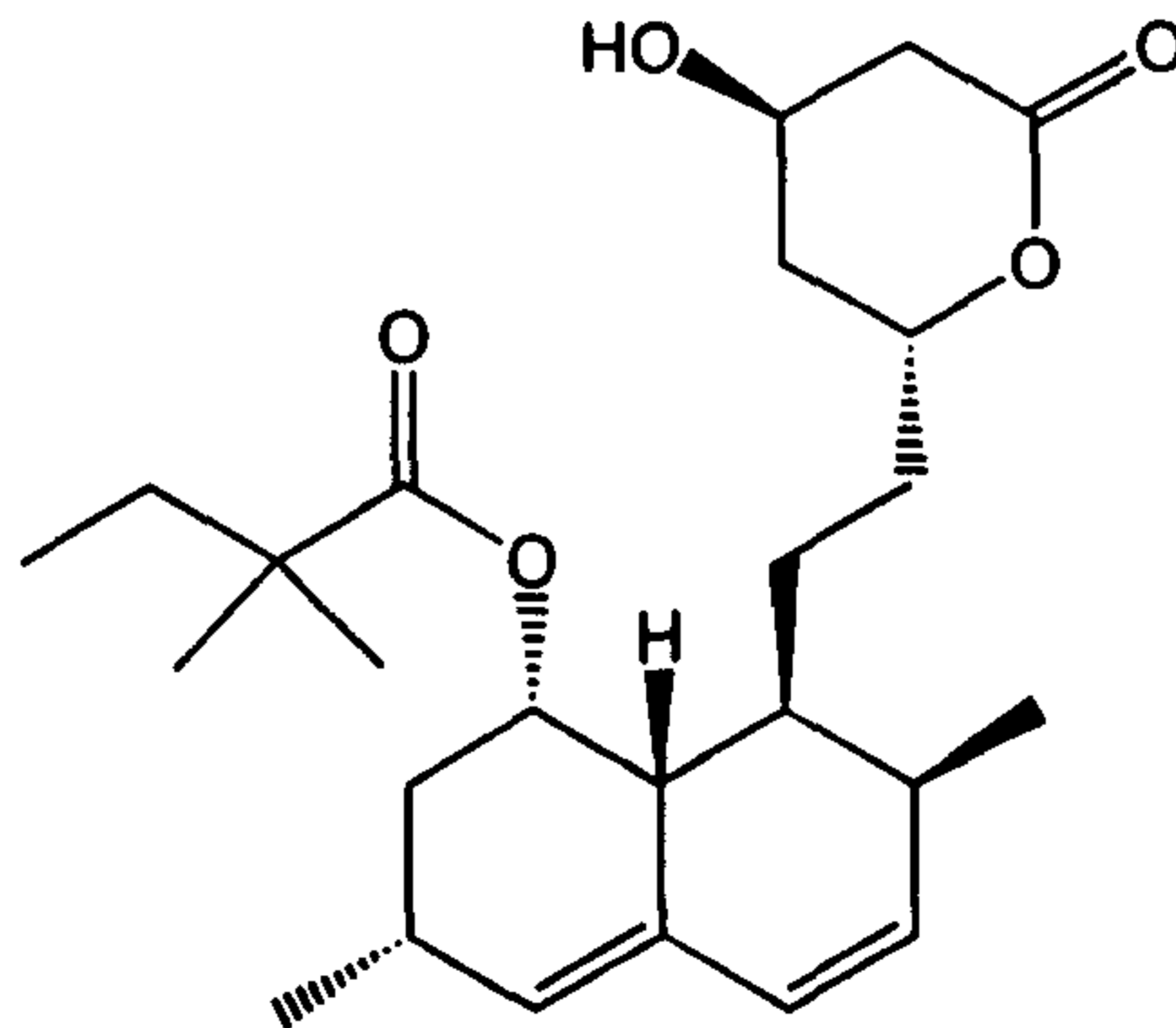
1) 국외 현황

Cholesterol생합성에 관여하는 효소의 조절물질에 관한 세계적인 수준은 개념 정립단계에 있으며, 다음과 같은 제품 또는 후보 물질이 제품화되었거나 임상중에 있다.^{2, 3, 4, 5, 6}

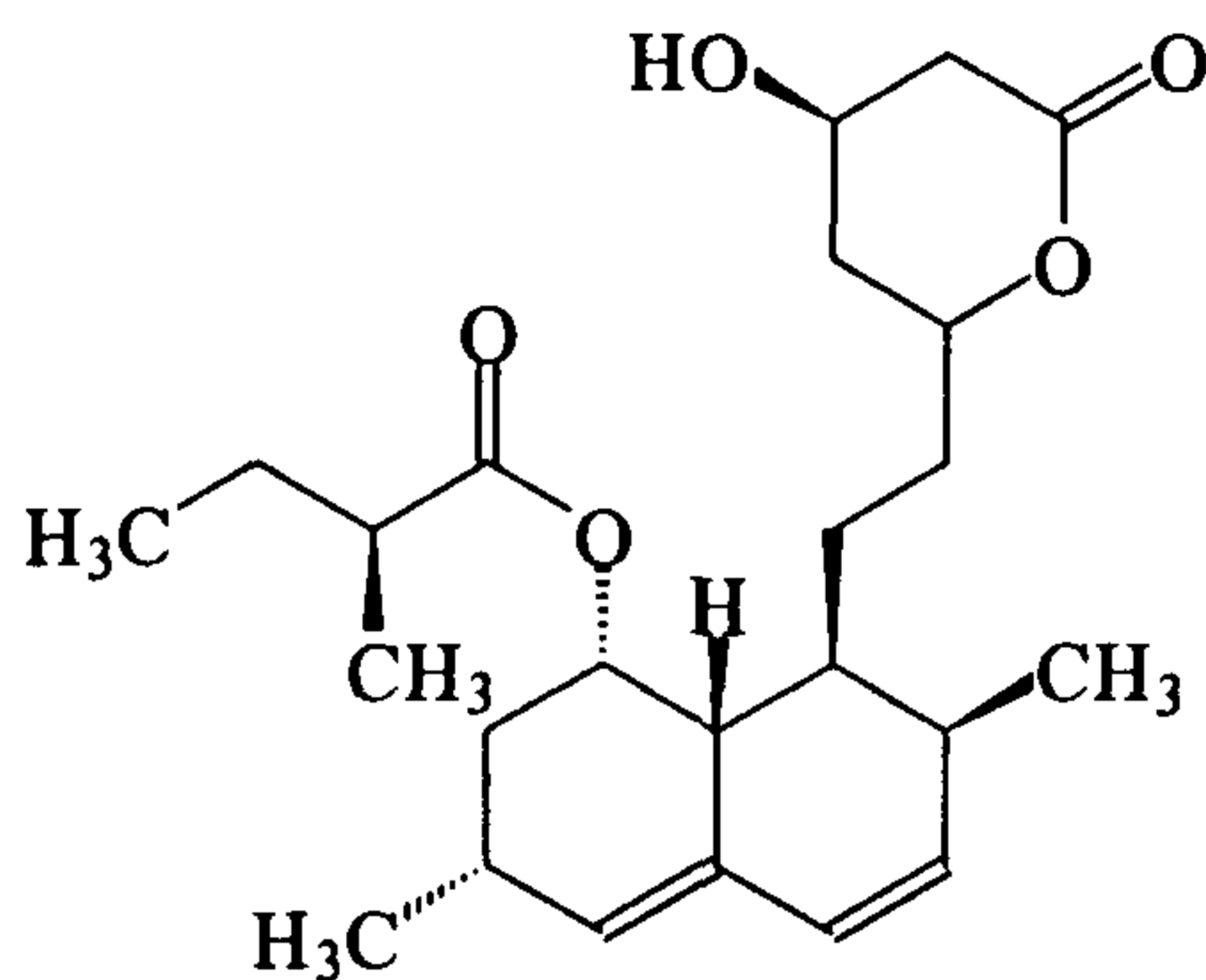
- Pravastatin : HMG - Co A reductase를 저해하여 혈중 콜레스테롤치를 저하시키는 미국의 Bristol Myer-Squibb사와 일본의 Sankyo사가 공동개발한 약제로 2000년대 20억 불이상의 매출이 기대되는 품목



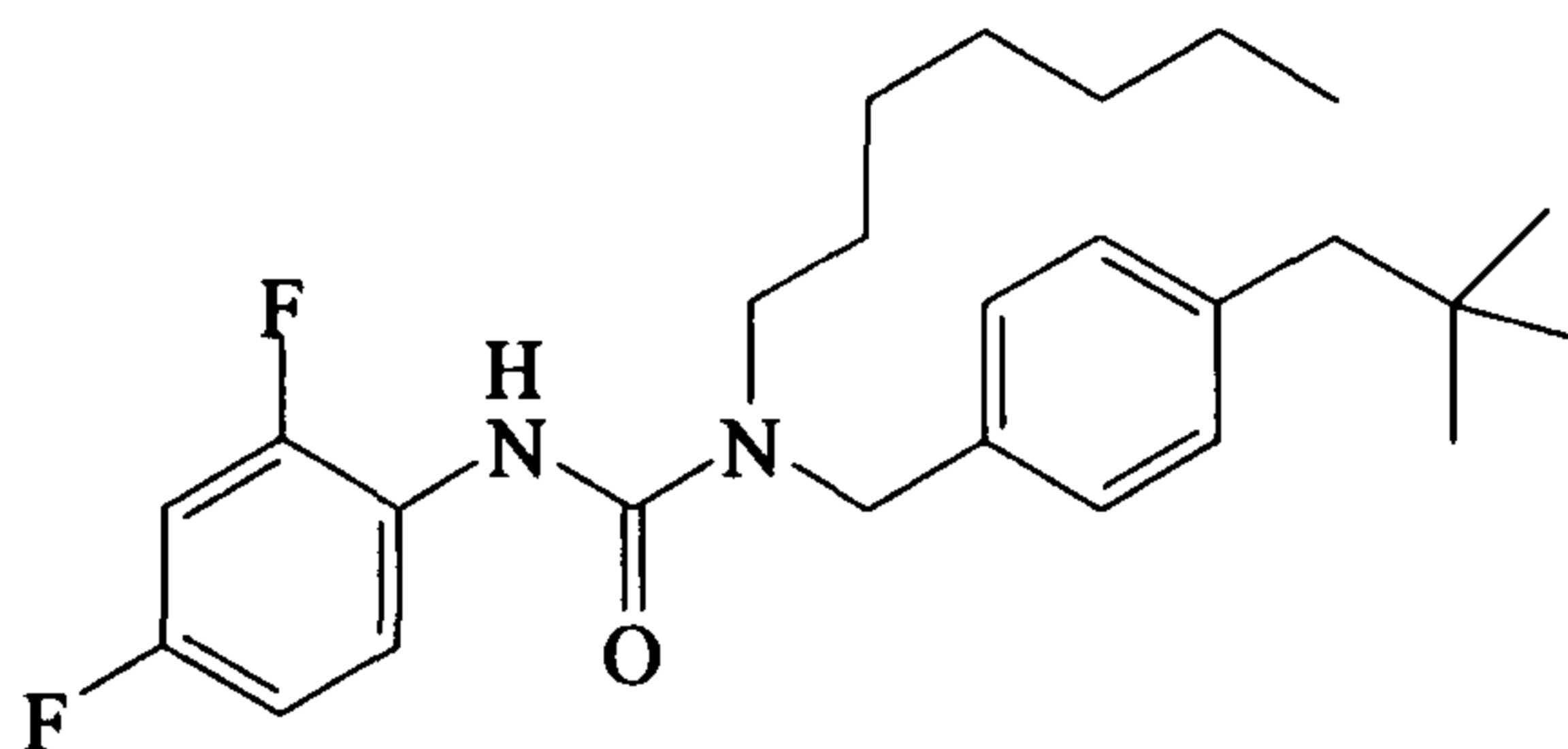
- Simvastatin : Merck사가 개발한 HMG - Co A reductase 저해제로 2000년대 20억불이상의 매출이 기대되는 품목



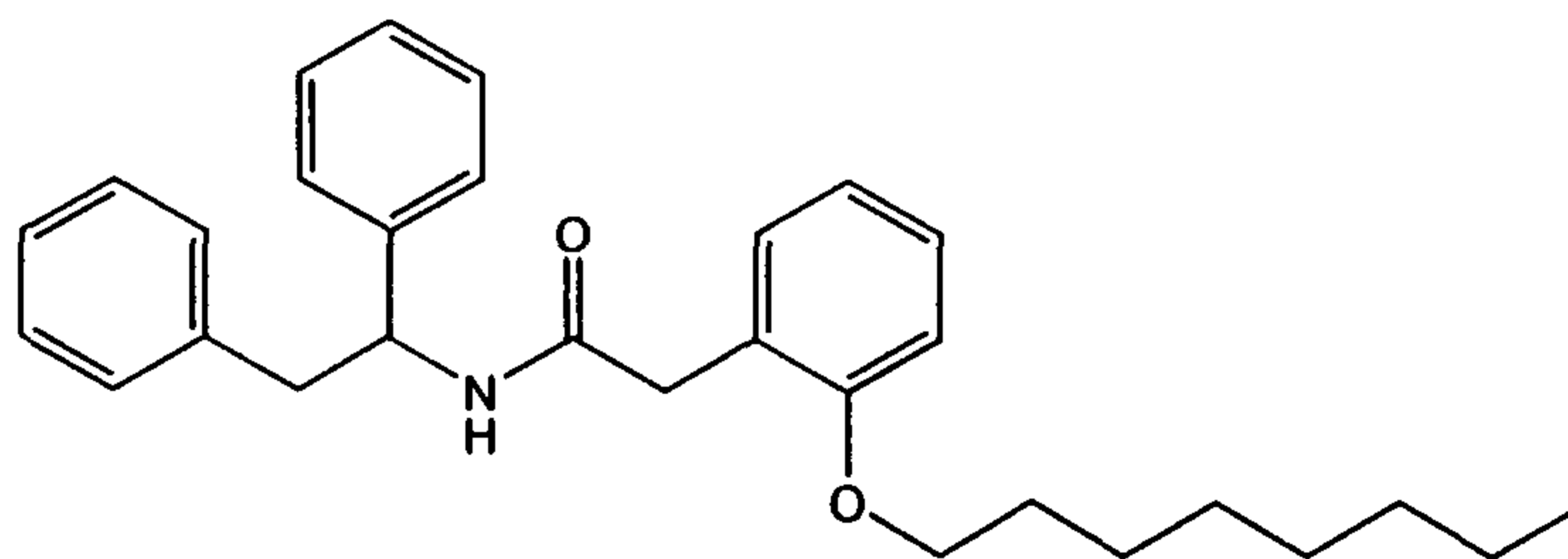
- Lovastatin : Merck사가 개발한 HMG - Co A reductase 저해제로 2000년대 10~20억불의 매출이 기대되는 품목



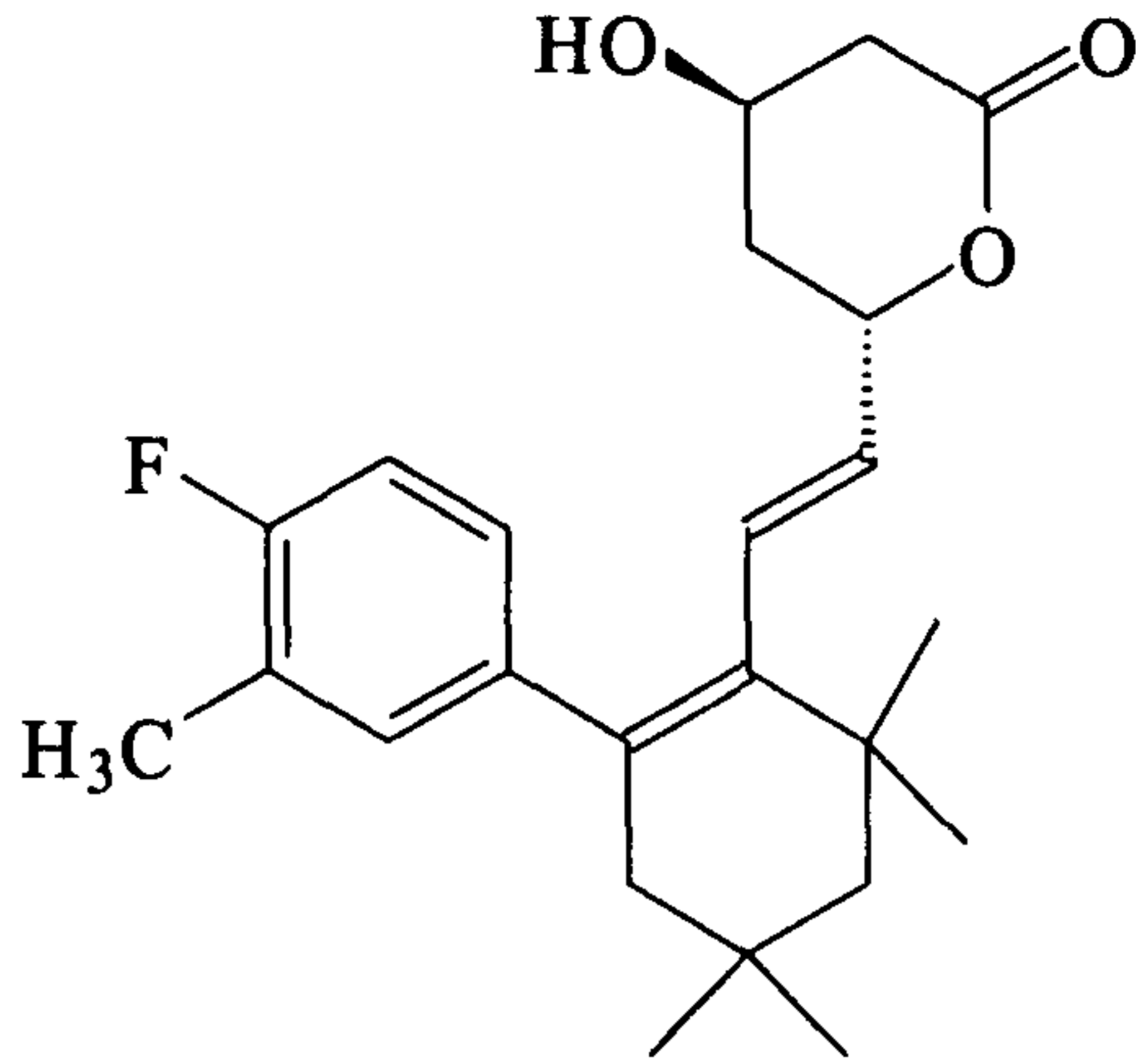
- CL-277082 : American Cyanamide사가 연구개발한 ACAT 저해제로 임상 2단계에 있음.



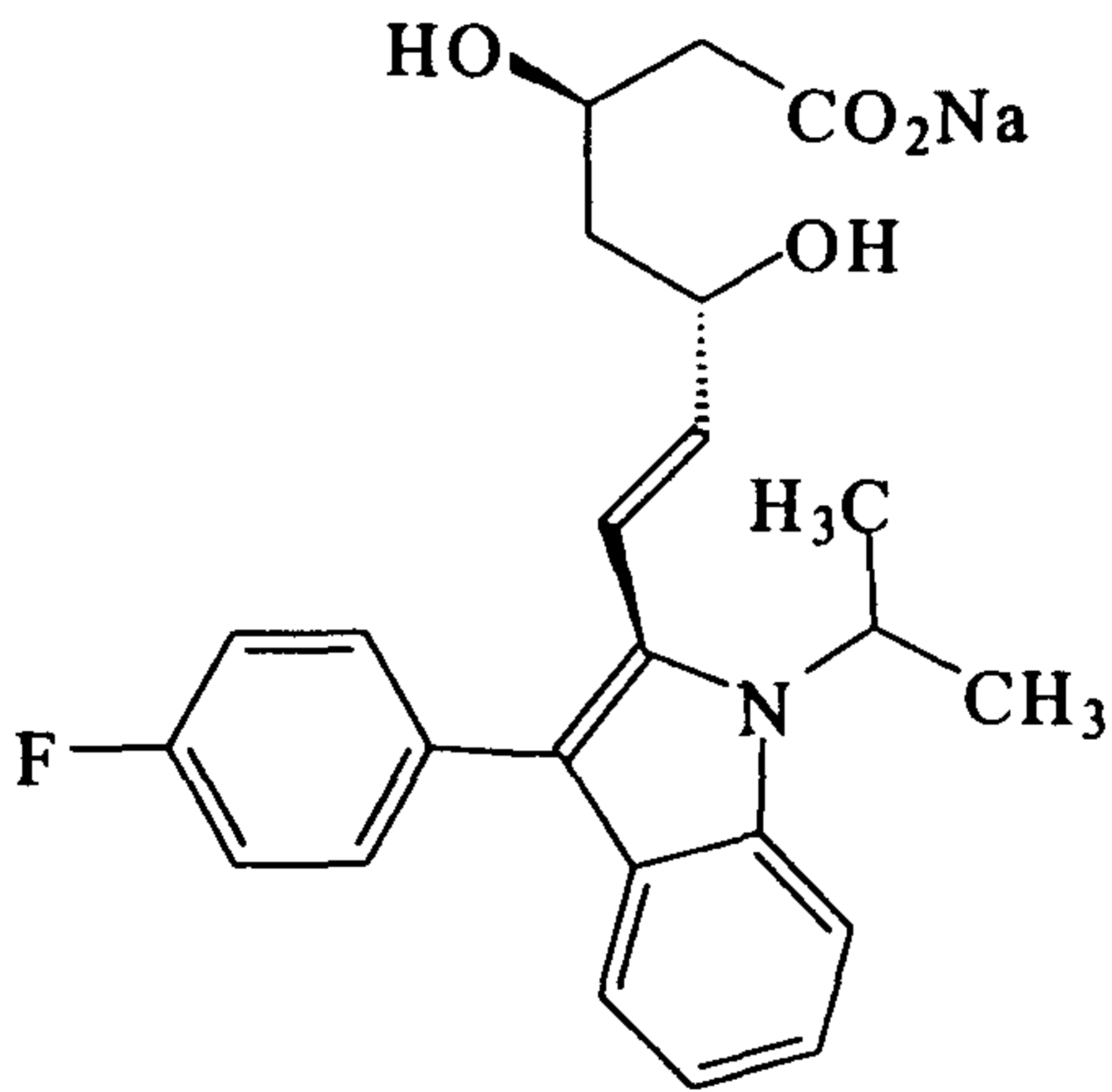
- FR-129169 : Fujisawa가 연구개발한 ACAT 저해제로 임상 3단계에 있음.



- Dalvastatin : Hoechst가 임상 시험 (2단계)중인 HMG - Co A reductase 저해제



- Fluvastatin : SmithKline Beechan사가 개발중인 HMG - Co A reductase 저해제



2) 당해 연구기관의 실적

1995년 5월부터 출연(연) 연구사업으로 본 연구개발을 수행중에 있다. 1,2차 연도에 선도물질로서 설계 및 합성하여 우수한 활성을 나타낸 라세믹체 hydantoin 유도체의 순수한 광학이성질체의 제조를 위한 비대칭 합성법을 개발하여 순수한 이성체 2개를 합성하였으며 신규한 Quinoline moiety를 갖는 화합물을 설계하여 그 대조 물질로서 Quinoline mevalonolactone 화합물을 합성하여 그 제조 방법을 확립하고, 합성된 신규한 화합물의 생리활성 시험을 실시하여, 2건의 특허를

출원하였으며, 진보된 약효 및 약리시험을 위해 hydantoin 유도체의 순수한 광학이성질체를 다량합성하는 한편, ACAT 저해제 대조화합물의 제조와 신규 urea계 후보물질을 다수 합성하였다.

3) 현기술상태의 취약성 :

안전성이 높고 지질 저하작용이 우수하며, 경구 흡수가 뛰어나고, 부작용과 만성독성이 적고, 우수한 조직(간) 선택성을 가지는 고지혈증 치료제가 요구되고 있고, 콜레스테롤의 장관 흡수를 억제시키는 ACAT 저해제 계열의 고지혈증치료제는 아직 임상에서 사용되지 않고 있는 등 콜레스테롤 생합성에 관여하는 효소중 율속단계에서 작용하는 HMG-Co A reductase외의 효소에 대한 저해제 개발연구는 초기단계에 있다.

4) 앞으로의 전망

고지혈증 치료제로서 HMG - Co A reductase 저해제, 혈청 고트리글리세라이드 저해제, LDL변성 억제제, 담즙산 배출 촉진제등으로 구성되어 있으나 HMG - Co A reductase 등을 포함한 콜레스테롤 생합성에 관여하는 효소의 저해제를 제외하고는 그 수요가 급속히 감소할 것으로 전망된다.²

1987년 Merck사에 의해 개발된 혈중 콜레스테롤치를 저하시키는 약물인 HMG - Co A reductase 저해제로서의 Lovastatin이 발매된 이래, 고지혈증 치료제는 의약품중 가장 큰 성장율을 나타내고 있으며, 1986년 미국등 선진 6개국의 고지혈증제 시장은 8억불이었으나 1991년 고지혈증 치료제 세계시장은 33억불로 약 4배 증가하였으며 2000년대까지는 100억불에 달할 것으로 추정하고 있다.⁷

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

3-1 서론

본 과제의 수행에 있어서 1,2차 연도에 이어 Cholesterol 생합성의 초기단계 HMG-Co A에 관여하는 reductase와 콜레스테롤의 에스테르화에 관여하는 ACAT의 효소 활성을 억제할 수 있는 선도화합물의 탐색에 초점을 맞추었으며, HMG-Co A reductase inhibitor의 substrate인 HMG-Co A의 γ -Hydroxy- γ -methyl glutaryl moiety의 유사체이면서 효소의 활성점에 결합하는 것으로 알려진 3,5-dihydroxy pentanoic acid moiety를 가지고 있어야 하며 physicochemical 특성을 부여할 수 있는 hydrophobic한 physicochemical domain이 3,5-Hydroxypentanoic acid와 탄소 2-3개의 spacer가 있는 콜레스테롤 생합성의 율속 단계인 HMG - Co A reductase의 저해제와 콜레스테롤의 에스테르화에 관여하는 ACAT의 활성을 저해하는 저해제를 분자설계하기 위해 생리활성과 구조간의 정성적 및 정량적 상관관계를 도출하고 이들 바탕으로 효소 저해작용과 경구흡수, 간 선택성, 안전성을 확보할 수 있는 화합물을 분자설계하여 약효가 우수하고, 경구흡수가 뛰어나며, 장기 복용시 안전성이 확보되고, 만성 독성이 적고, 조직 선택성이 우수한 효소 저해제의 후보물질을 도출하는 것을 목표로 하였다.

ACAT(Acyl CoA:Cholesterol O-Acyltransferase)는 콜레스테롤의 흡수에 관여하는 효소로서 ACAT inhibitor는 혈청내의 콜레스테롤치의 저하뿐만 아니라 동맥경화증의 직접적인 치료효과도 기대할 수 있다. ACAT inhibitor의 개발연구에서 비교적 우수한 연구결과들이 보고되고 있으나, 제품화된 것은 아직 없는 초기단계에 있으며 최근 연구가 매우 활발하게 진행되고 있다. 그러나, 현재 ACAT의 binding site에 대해 명확한 규명등이 이루어져 않고, 용해도 및 생체이용률등에 대한 개선의 여지등이 많이 남아 있으므로 기존의 연구결과를 기초로 하여 연구를 진행할 경우 경쟁력이 있을 뿐만 아니라 연구 개발의 성공가능성도 높을 것으로 사료되어 ACAT inhibitor를 설계 및 합성하고자 하였다.

따라서 본 연구에서는 1,2차 연도에서 우수한 효소저해작용을

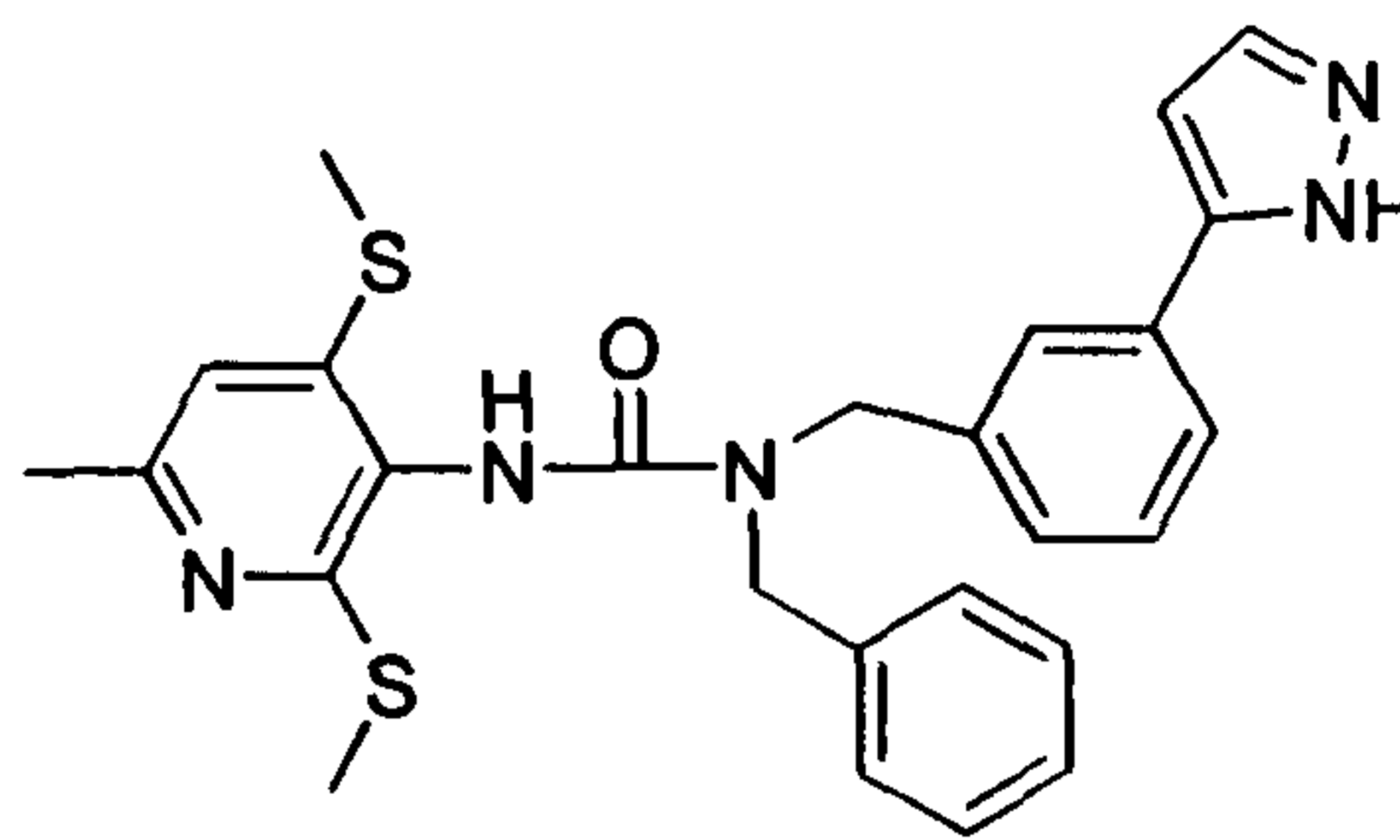
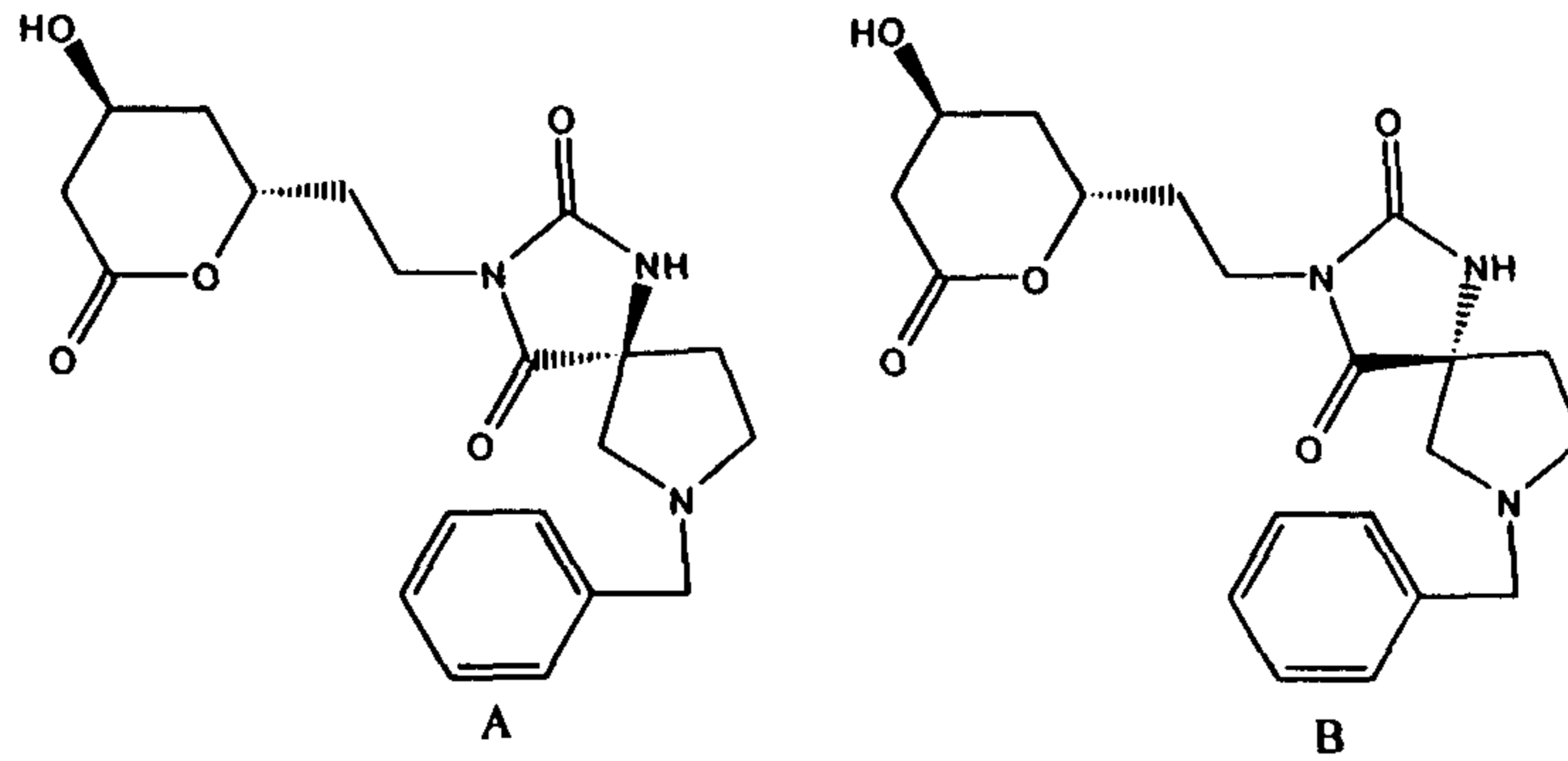
나타낸 hydantoin계열의 순수한 광학이성질체 구조(A,B)를 갖는 화합물을 HMG-Co A reductase 억제제의 진보된 연구를 수행하기 위해 scale-up 제조방법(Scheme 1)을 연구하여 다량합성하였으며, 한편으로는 콜레스테롤의 흡수에 관여하는 효소로서 콜레스테롤의 에스테르화에 관여하는 ACAT의 활성을 저해하는 저해제를 분자 설계하여 약효가 우수하고 경구 흡수가 뛰어나며 장기 복용시 안전성이 확보되고 만성독성이 적은 ACAT 저해제의 후보물질을 도출하기 위하여 다수의 신규한 Urea type의 화합물을 합성하였고, ACAT 저해제의 대조 화합물로 FR186054를 선정하여 이것을 합성(Scheme 2)하였다.

1) 광학 이성질체 Hydantoin계 화합물(A, B)의 합성^{10, 11}

전년도에 창출되어 우수한 활성을 갖는 라세믹 hydantoin moiety를 갖는 화합물의 광학이성질체는 Scheme 1와 같은 방법으로 합성되었다. 화합물 11과 12 합성의 중간체인 4-oxoproline 화합물 4는 trans-4-hydroxy-L-proline으로부터 Tanaka¹⁰ 등의 방법으로 쉽게 얻어진다. Tanaka 등은 4-oxoproline의 질소 원자를 benzyl기로 보호하였으나 본 연구에서는 탈보호가 쉬운 t-BOC 기를 보호기로 사용하였다. 화합물 4를 Bucherer-Berg method를 사용하면 diastereomer 화합물 5와 6이 9:1로 합성되었다. 이들은 silica gel column chromatography에 의해 less polar한 화합물 5와 more polar한 6으로 분리할 수 있었다. 화합물 5와 6은 염화수소기체로 포화한 메탄올 용액에서 탈보호하여 얻어진 화합물 7과 8을 탈탄산하여 화합물 9와 10을 좋은 수율로 얻을 수 있었다. proline고리의 질소원자가 보호기에 의해 보호되어 있을 때는 2-위치의 카르복실기는 제거되지 않았다. 화합물 9와 10의 proline고리의 질소원자에 벤질기를 도입하여 전년도 보고서의 같은 방법으로 목적화합물인 광학이성질체 11과 12를 합성하였다.

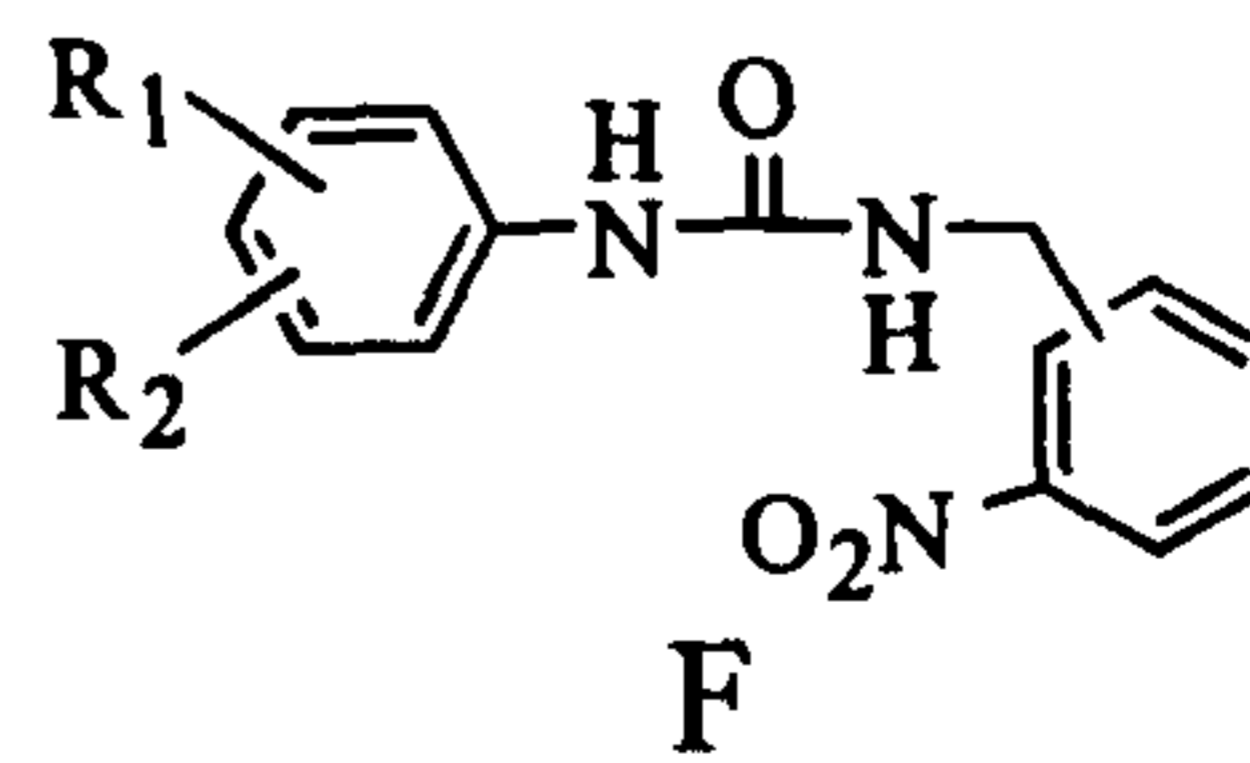
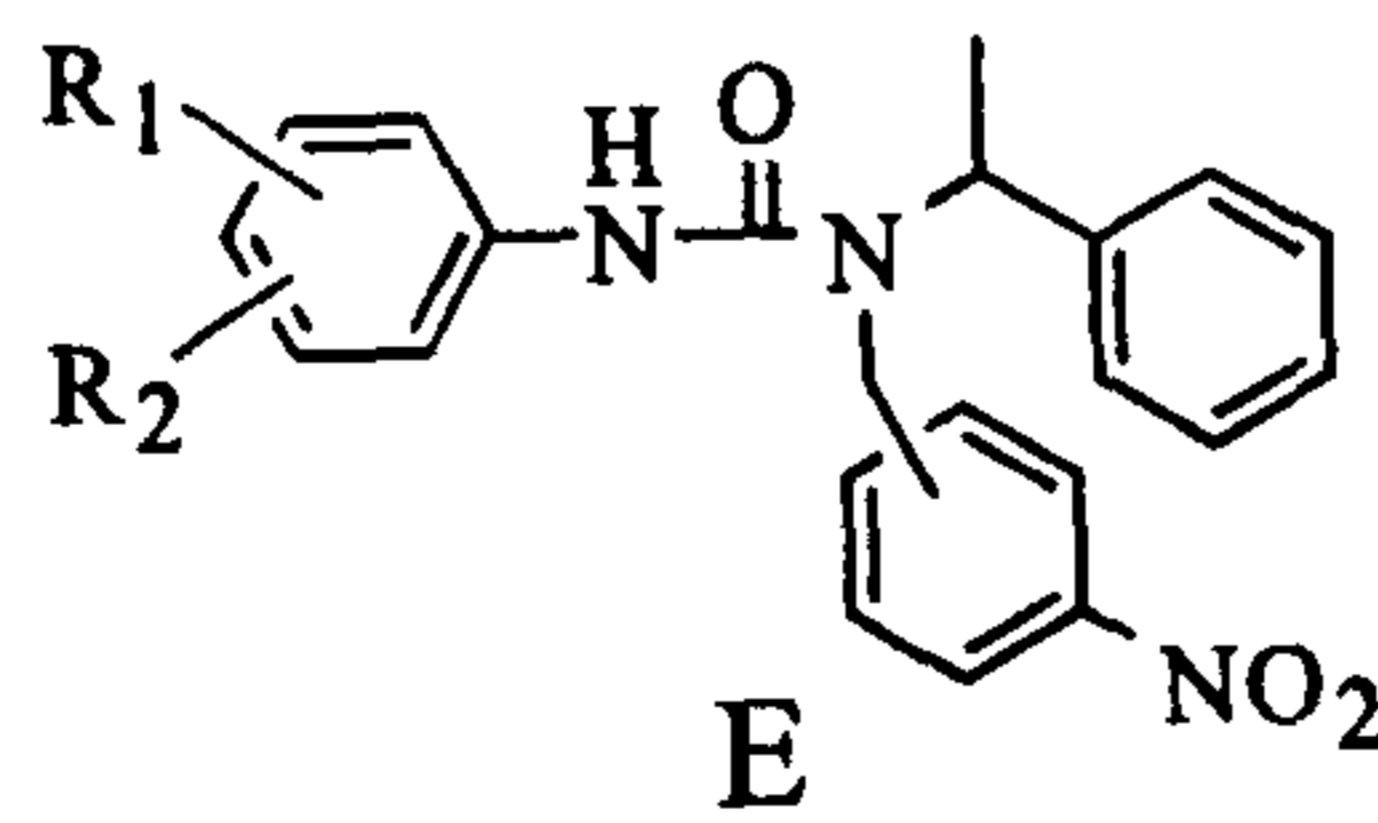
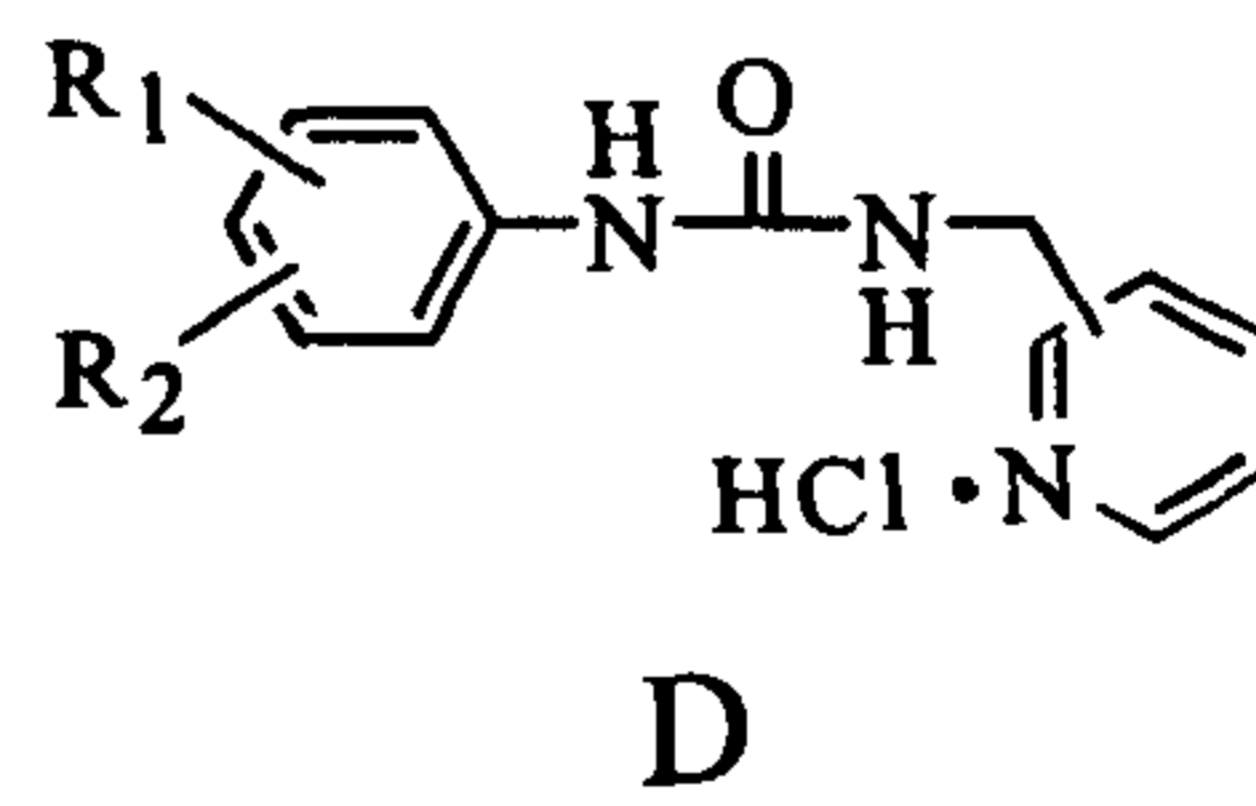
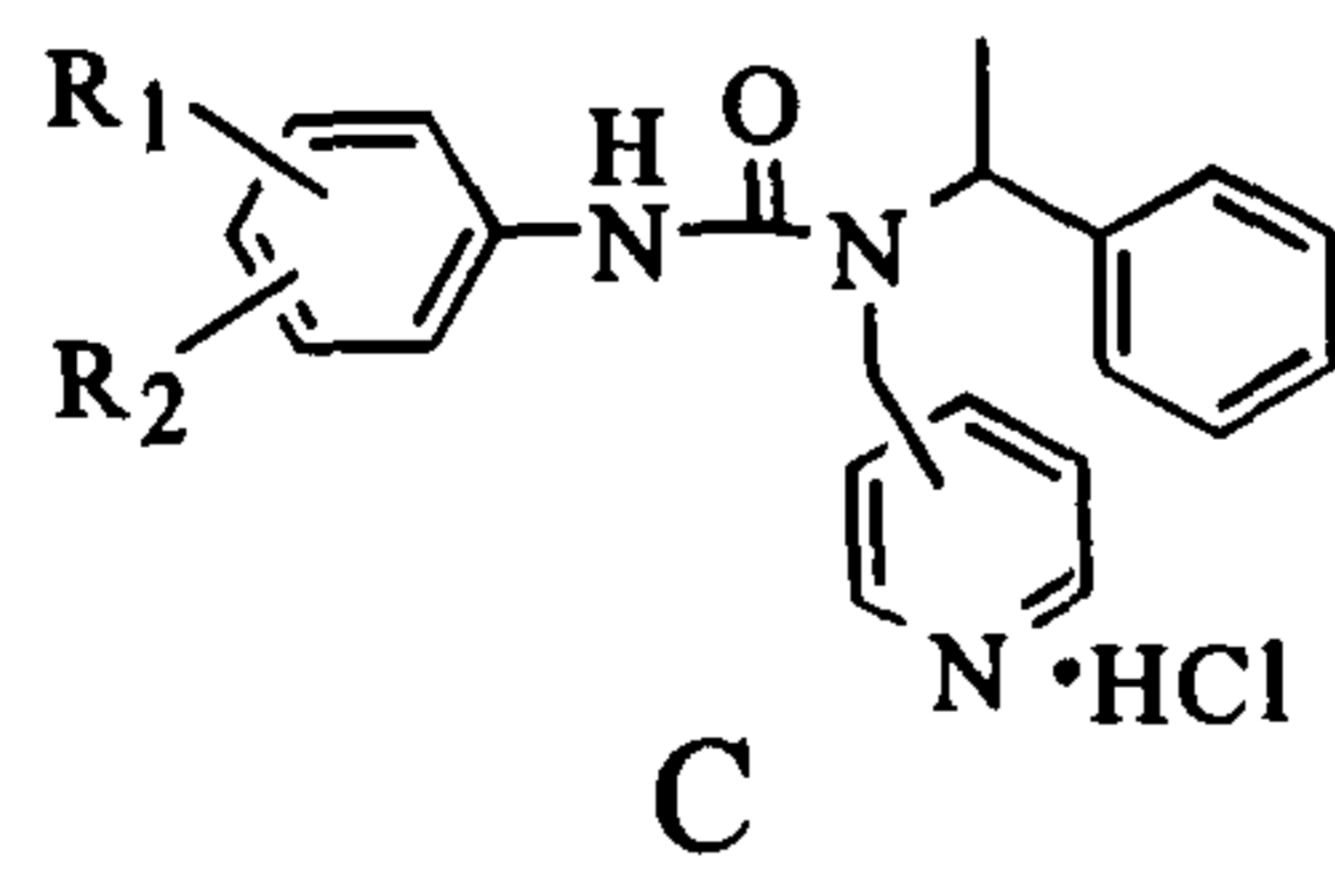
2) ACAT 저해제 대조화합물(FR 186054)의 합성^{8,9)}

대조화합물로 선정된 FR 186054를 Tanaka등^{8,9)}이 발표한 방법에 따라 (Scheme 2)합성하였다.



FR 186054

3) 신규한 Urea계 화합물의 합성



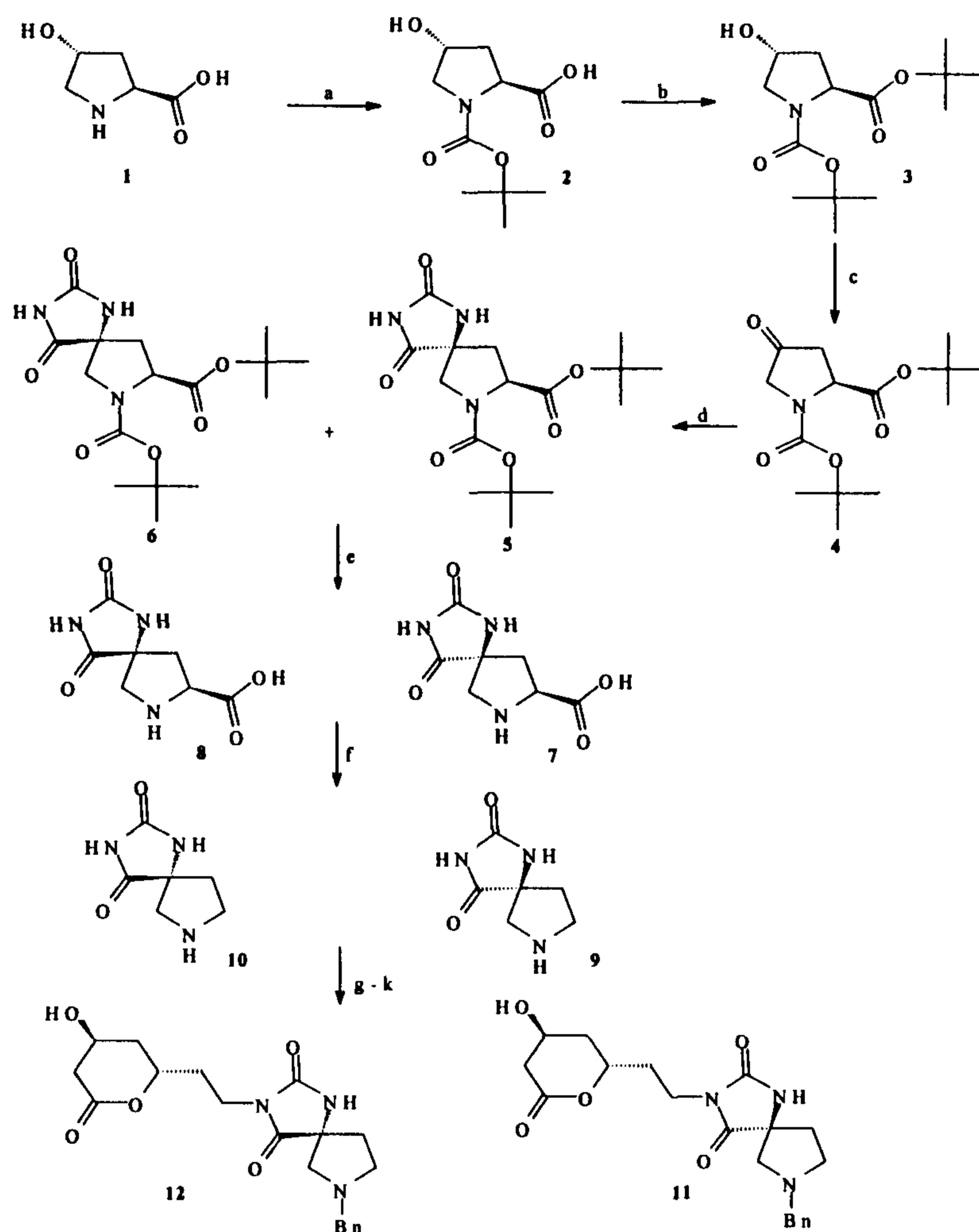
신규한 urea화합물 C, D, E, F는 Scheme 3과 4에 보여주는 바와 같이 합성된 2급 아민 3과 4를 Scheme 5의 공정에서 보는 바와 같이 제조된 여러가지 isocyanate유도체와 반응시켜 제조되었다.

2급 아민 3은 formyl기가 2, 3 또는 4번위치에 치환된 피리딘을 (R)- α -Methylbenzylamine 또는 (S)- α -Methylbenzylamine, benzylamine과 축합시켜 얻은 imine유도체들을 NaBH₄로 환원하여 얻어졌으며, 2급 아민 6은 Benzyl bromide유도체 5를 (R)- α -Methylbenzylamine 또는 (S)- α -Methylbenzylamine, benzylamine에 치환시켜 얻어졌다.

여러가지 isocyanate유도체 8은 Aniline유도체 7을 Triphosgen으로 처리하여 얻어진 것을 Scheme 7과 8의 제조공정에 사용하였다. Scheme 7과 8의 제조공정에 따라 얻어진 신규한 Urea유도체 9와 12는 물에 대한 용해도가 대조화합물 FR 186054보다 개선되었다. 화합물 9와 12을 물에 용이하게 용해시키기 위하여 이들 유도체를 염화메틸렌 또는 메탄올에 녹여 염화수소기체를 포화시켜 3-14시간 교반하여 화합물 9와 12의 염화수소염 유도체 10, 11, 13, 14를 얻었다. 염화수소염 유도체 10과 13은 반응완료 후 실온에서 반응혼합물의 용매를 감압증발시켜 에틸 에테르로 세척하여 순수한 고체로 제조되었다. 염화수소염 유도체 11과 14는 반응완료 후 35-60 °C에서 반응혼합물의 용매를 감압증발시켜 에틸 에테르로 세척하여 순수한 고체로 제조되었다.

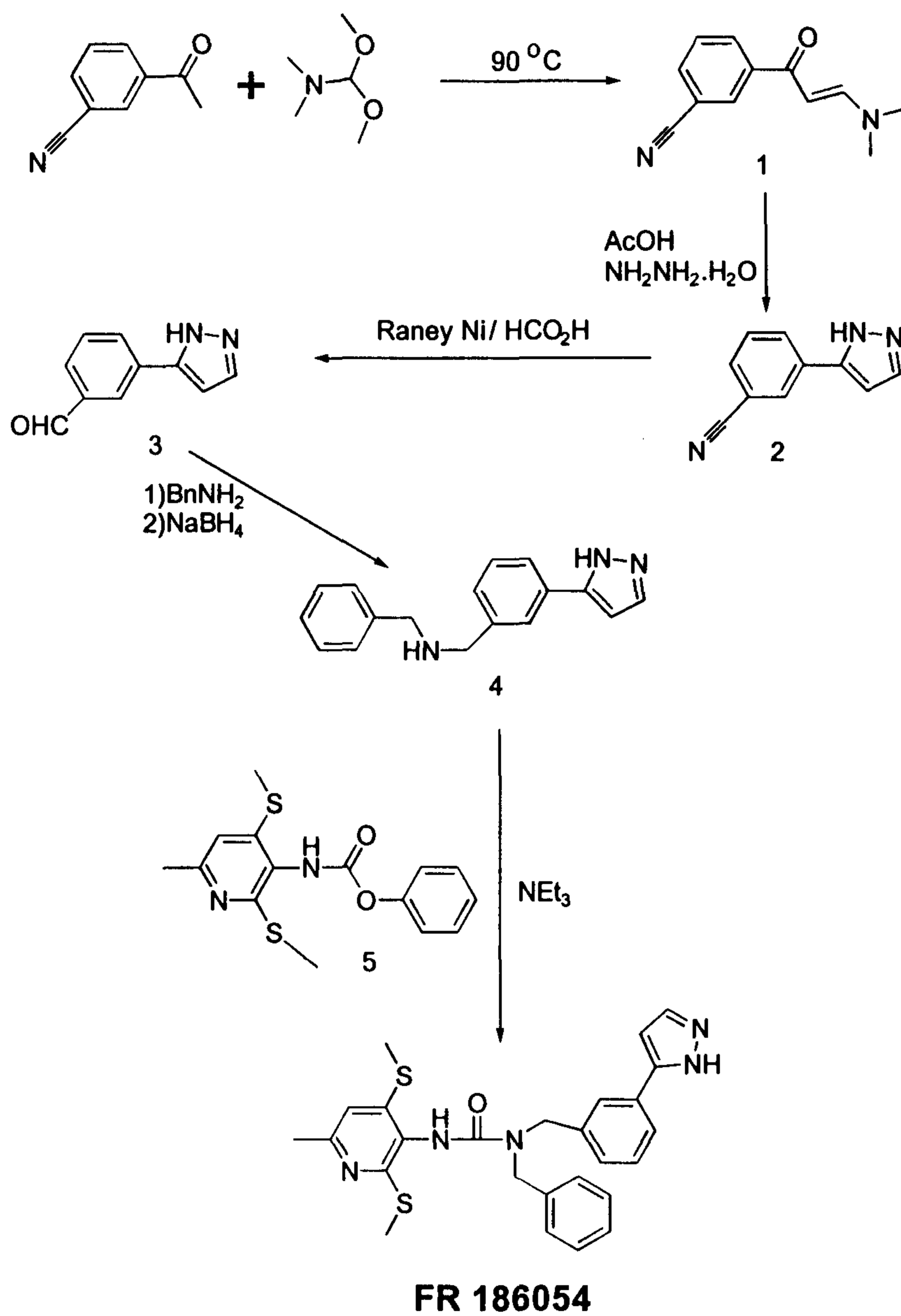
4) *in vitro* 약효검색

합성된 광학 이성질체 Hydantoin계 화합물(A, B)과 진보된 *in vitro* 및 *in vivo* 약효검색은 본연구에 참여하고자하는 기업이 진행하고 있으며 ACAT에 대한 억제작용 검색은 생명공학연구에서 진행하게 될 것이다.



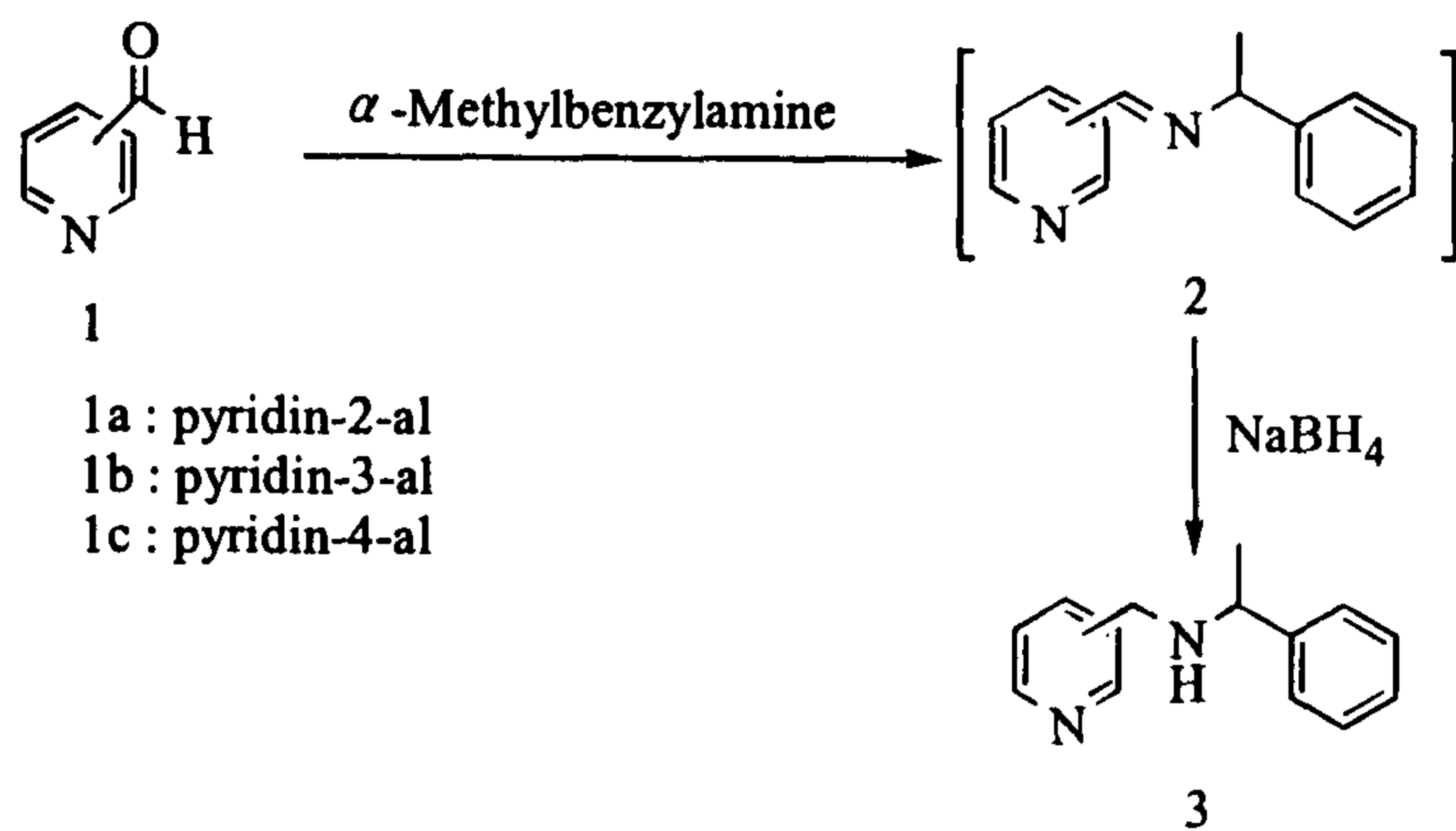
a) DiBOC, MeOH, Et₃N, r.t. 24h (93%); b) N,N-Diethylformamide dineopentyl acetal, *t*-BuOH, benzene, reflux, 1.5h (88%); c) RuCl₃·xH₂O NaIO₄, CCl₄-H₂O, r.t. 2h ; d) (NH₄)₂CO₃, KCN, DMF - MeOH(1:1), 55 - 60°C, 24h, Column Chromatography (CHCl₃/MeOH=100/1); e) HCl(g)/MeOH (95%); f) Cyclohexanol, 2-cyclohexenone(cat), reflux, 3h (90%); g) Benzylchloride, Et₃N, CH₂Cl₂, reflux, 6h (88%); h) Br(CH₂)₂CH(OCH₃)₂, NaH (68%); i) *p*-TsOH; j) Ethylacetoacetate, NaH, *n*-BuLi, THF, -30°C (56%); k) i, B(Et)₃, NaBH₄, -78°C, (45%); ii, LiOH, THF-H₂O, r.t. iii, HCl then Toluene, reflux (43%)

Scheme 1

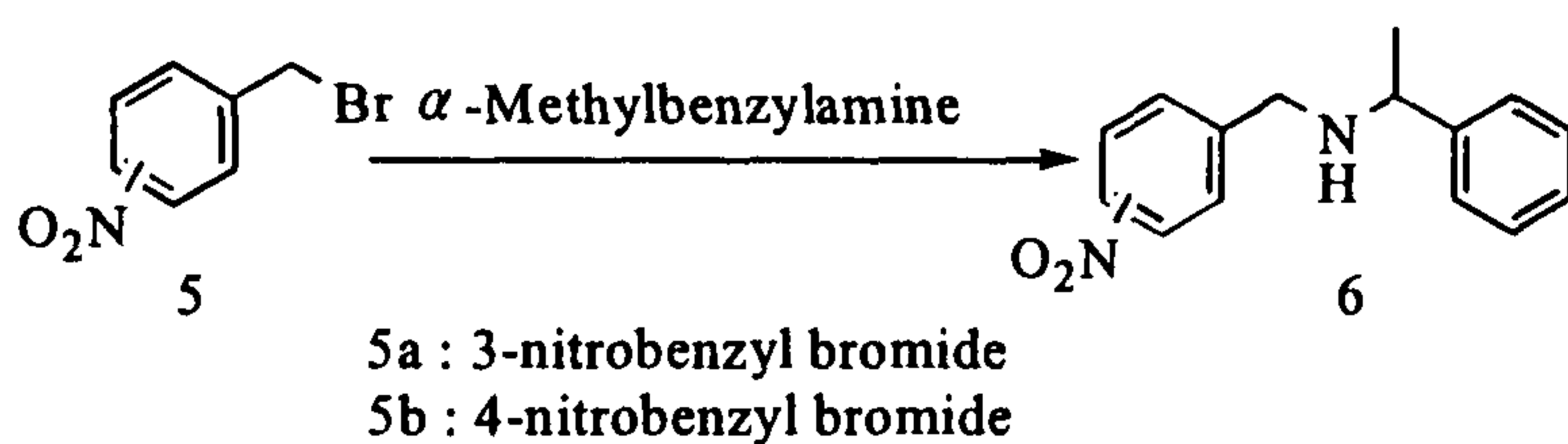


FR 186054

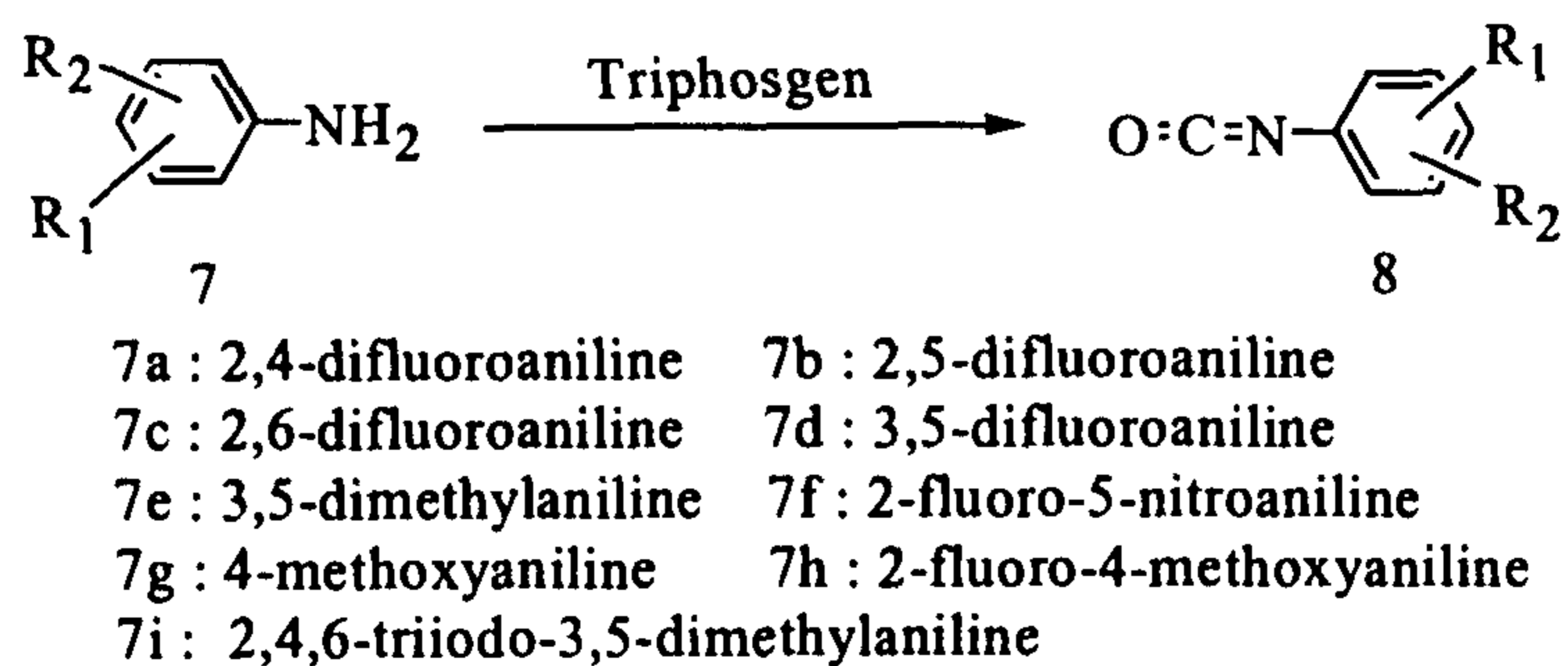
Scheme 2



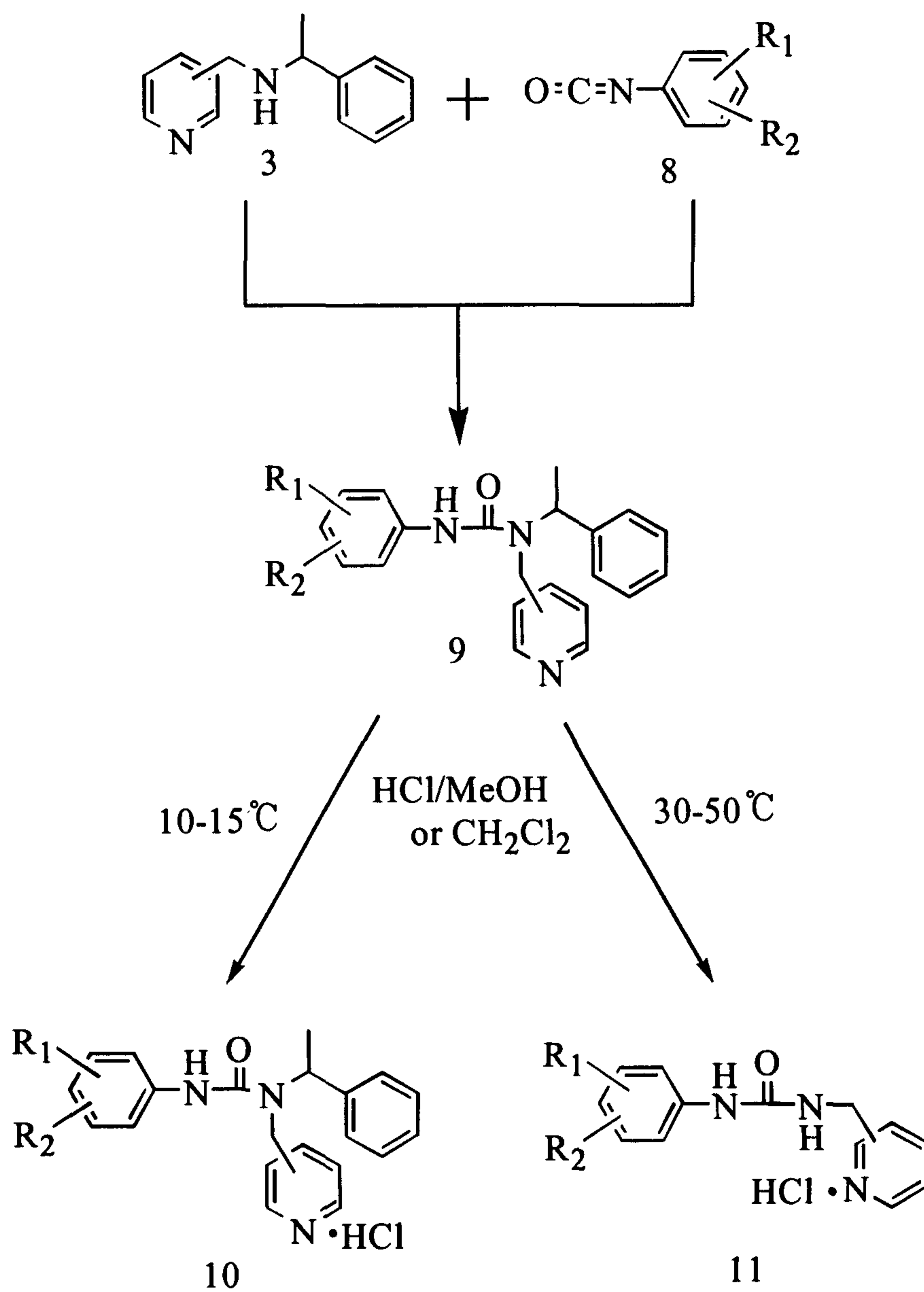
Scheme 3



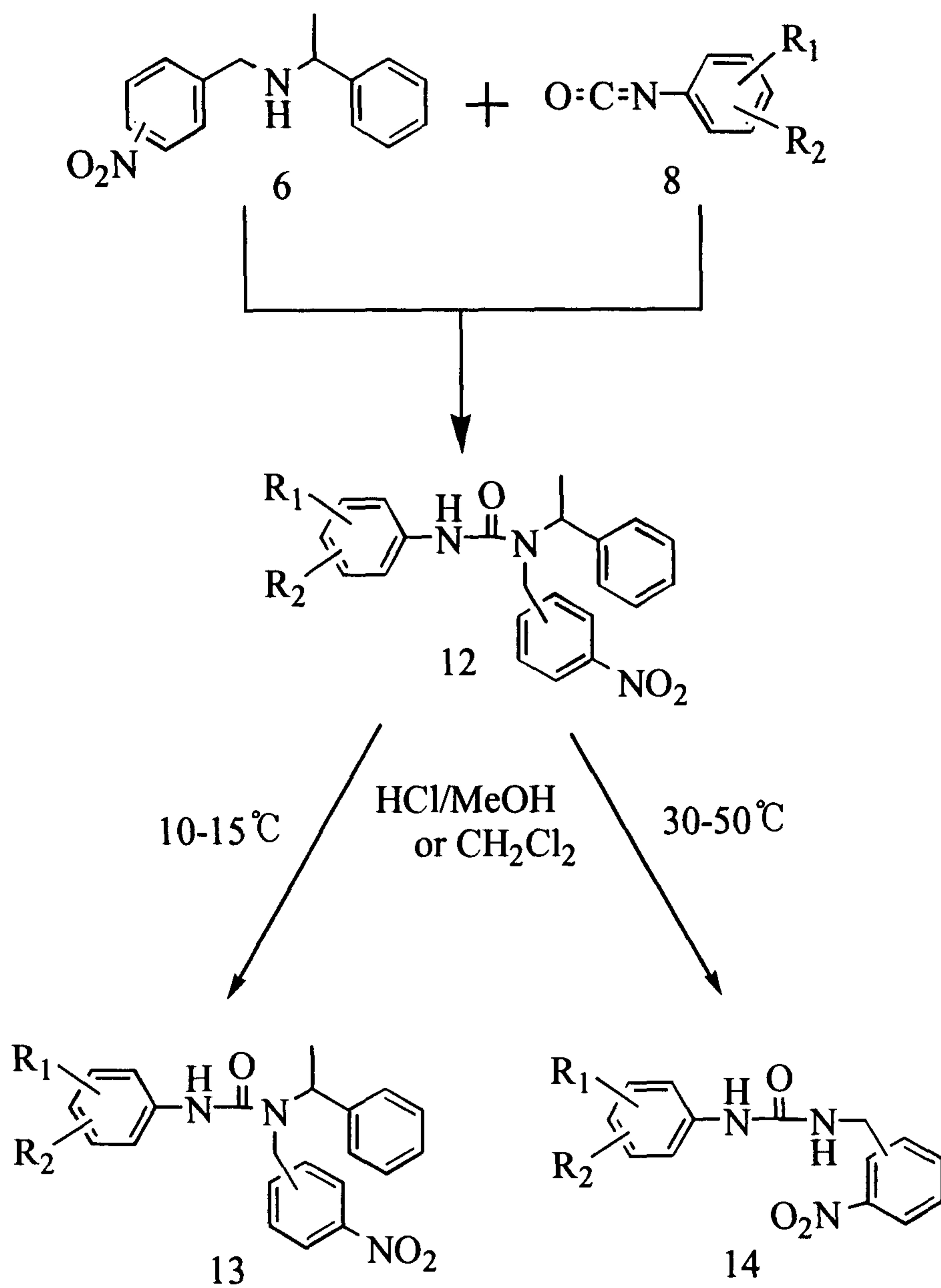
Scheme 4



Scheme 5



Scheme 7



Scheme 8

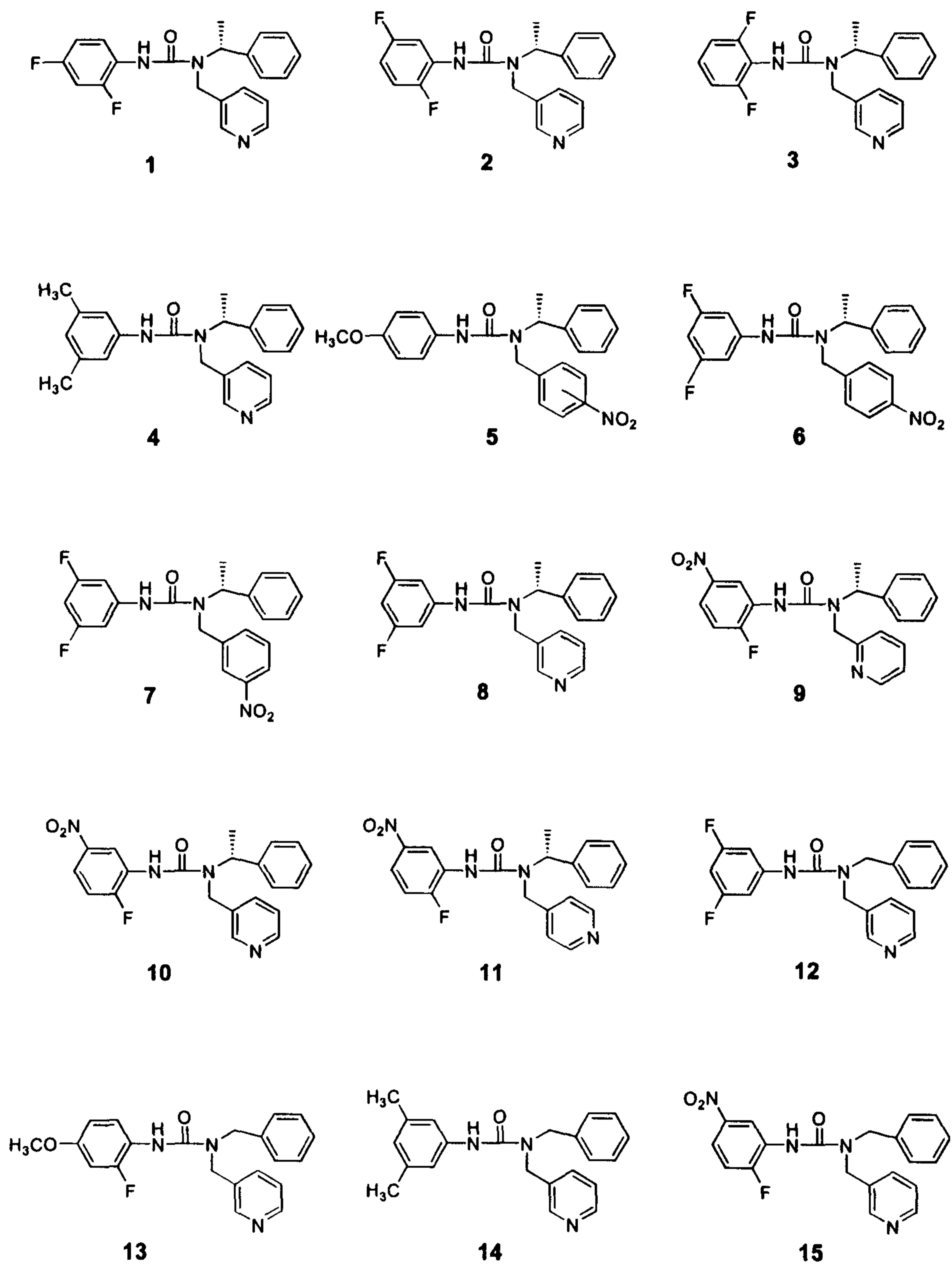


Fig. 1 New Compounds Synthesized

3-2 실험 내용

1. (3S)-1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아자-3'-[2''-(3-히드록시-5-옥소피라닐)에틸]-2',4'-시클로페타디온과 (3R)-1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아자-3'-[2''-(3-히드록시-5-옥소피라닐)에틸]-2',4'-시클로페타디온의 합성

1-1. (4R)-N-tert-부톡시카르보닐-4-히드록시-L-프롤린의 합성

trans-4-hydroxy-L-proline (30g, 228.9mmol)을 10 V%의 Triethylamine이 용해된 MeOH 용액 300ml에 용해하고 Di-tert-butyl dicarbonate (54.9g)가하여 실온에서 24시간 동안 교반 시킨다. 반응물을 감압하에 용매를 제거하고 ice-bath를 사용하여 1N HCl로 pH2로 산성화 시켜 EtOAc 300ml로 3-4번 추출한 다음, 추출한 용액을 무수 Sodium sulfate로 건조시켜 여과한 다음 감압하에 용매를 제거하여 product (49.2g 93%)를 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CDCl}_3)$ 4.6-4.4 (m, 2H, C-2 and C-4), 3.62 (m, 2H, C-5), 2.35 (m, 2H, C-3), 1.44 (s, 9H);

1-2. N-tert-부톡시카르보닐-4-히드록시-L-프롤린-tert-부틸에스터의 합성

(4R)-N-tert-부톡시카르보닐-4-히드록시-L-프롤린 12.4g (54 mmol), N,N-Diethylformamide dineopentyl acetal (25g 108mmol), tert-butanol (32g, 432mmol)을 무수 Benzene (100ml)에 가하여 1.5시간 동안 reflux 교반 시킨다. 반응물은 먼저 물로 2번 washing하고, 다음에 sodium bicarbonate로 다시 2번 washing하고 brine로 washing한 다음 무수 Sodium sulfate로 건조시켜 여과한 다음 감압하에 용매를 제거하고 silicagel column chromatograph(MC/MeOH=9:1)하여 분원하는 생성물 11.0g (80%)를 얻었다.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CDCl}_3)$ 5.4(s), 4.2(m), 3.6(d), 2.0(s), 1.44(d)

1-3. N-tert-부톡시카르보닐-4-옥소-L-프롤린-tert-부틸에스터
의 합성

Ruthenium(III) chloride hydrate (2.8g, 0.2 equiv), NaIO_4 (29.5g, 2equiv)을 CCl_4 (500ml)과 Water(1500ml)에 첨가한 다음 ice-water bath를 이용하여 yellow color가 생성될 때까지 vigorous하게 교반한 다음 N-tert-부톡시카르보닐-4-히드록시-L-프롤린-tert-부틸에스터 (20.0g, 69mmol)을 Chloroform (200ml)에 녹여 one portion으로 가하여 실온에서 2시간 vigorous하게 교반한다. 반응물은 유기층과 물층으로 분리하고, 물층을 Ethyl ether로 추출한다. Chloroform층과 Ethyl ether층을 모아 Iso propanol (100ml)를 첨가하고 celite를 이용하여 여과한 다음 무수 Magnesium sulfate로 건조하고 여과하여 감압하에 용매를 제거하고, silica gel column chromatograph (Hexane/Ethylacetate=1:1)하여 목적화합물을 16.1gr(80.4%)을 얻었다.

1-4. (2S,4S)-1-N-tert-부톡시카르보닐-2-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-4-스피로-1',3'-디아자-2',4'-시클로펜타디온과 (2S,4R)-이성체의 합성

N-tert-부톡시카르보닐-4-옥소-L-프롤린-tert-부틸에(12g, 42 mmol), Ammonium carbonate (20g, 200mmol), KCN (6g, 80mmol)을 DMF/MeOH=1:1인 용액 1000ml에 첨가하여 55-60 $^{\circ}\text{C}$ 로 가열하여 24시간 교반한다. 반응물을 물로 희석해서 EtOAc로 추출하고 추출물을 brine으로 Washing하고 무수 Sodium sulfate로 건조하고 여과하여 감압하에 용매를 제거하고 silicagel column chromatograph (Chloroform/MeOH=100:1)을 이용하여 분리하면, less polar한 화합물 5(8.6gr) 과 more polar한 화합물 6 (3.1gr)(Scheme 4)을 얻을 수 있다. 여기서 less polar한 화합물 5가 major 화합물이다.

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CDCl}_3)$ 8.42, 6.64, 4.41, 3.84, 2.99, 2.89, 2.20, 2.00,

1.71, 1.50, 1.45
¹³C-NMR(δ, CDCl₃) 27.85, 28.21, 39.90, 58.96, 66.57, 81.07, 82.94,
155.30, 172.89, 173.54

1-5. (3S)-1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아자-2',4'-시클로펜
타디온과 (3R)-이성체의 합성

(2S,4S)-1-N-tert-부톡시카르보닐-2-tert-부톡시카르보닐피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아자-2',4'-시클로펜타디온 (20g, 40mmol)을 실온에서 10% 염화수소메탄올 용액 300ml에 넣고 5시간 교반하고 생성된 하얀 고체를 여과하여 물에 녹인 다음 포화 NaHCO₃ 수용액으로 pH를 6으로 조정하면 하얀 고체가 생성된다. 고체를 여과하여 감압건조시킨 후 cyclohexanol 100ml에 넣고 2-cyclohexenone 1 ml을 첨가하고 3시간 reflux한다. 반응물을 실온으로 냉각시킨 다음 HCl이 포화된 ether를 첨가하면 약간 갈색의 고체가 생성된다. 이를 감압하에 여과하고 건조시켜 얻은 HCl salt 7 g과 triethylamine 23ml을 methylene chloride 200ml에 넣고 30분간 교반하고 benzylchloride 20g을 추가한 다음 6시간 동안 가열 교반한다. 반응물에 1M aqueous NaCl을 첨가하고 methylene chloride로 추출하고 brine으로 washing한 후에 무수 sodium sulfate로 건조하여 silica gel column chromatography (Hexane/EtOAc=2:1)하여 원하는 화합물 11.2g을 얻었다.

(3S) : ¹H-NMR (δ, DMSO-d₆) 1.95 (1H, m), 2.15 (1H, m),
3.10 (2H, s), 3.40 (2H, m),
3.60 (2H, q), 7.28 (5H, m),
8.40 (1H, s), 10.70 (1H, s)

(3R) : ¹H-NMR (δ, DMSO-d₆) 1.95 (1H, m), 2.15 (1H, m),
3.10 (2H, s), 3.40 (2H, m),
3.60 (2H, q), 7.28 (5H, m),
8.40 (1H, s), 10.70 (1H, s)

1-6. (3S)-1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아자-(3'',3''-디에톡시프로필)-2',4'-시클로펜타디온의 합성

(3S)-1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아자-2',4'-시클로펜타디온 3g을 디메틸포름아미드 5 ml에 녹이고 NaH (60% disperse oil) 0.35g을 가한다. 2시간 동안 실온에서 교반 후 3-chloropropionaldehyde diethyl acetal 2.23 ml를 디메틸포름아미드 5 ml에 녹인 용액을 서서히 가한다. 완전히 가한 후 60°C로 가온하고 2시간 더 교반한다. 반응혼합물을 물 50 ml에 붓고 EtOAc로 추출 후 감압농축하고 Column chromatography(전개용매:EtOAc/Hex=90/1)하여 상기 목적화합물 2.94g을 얻었다.

¹H-NMR (δ, DMSO-d₆) 1.20 - 1.35 (m, 8H), 1.95 - 2.45 (m, 4H), 3.21 (s, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.62 (q, 2H), 4.18 (t, 2H), 4.20 (t, 2H), 7.28 (m, 5H), 8.40 (s, 1H)

1-7. (3S) 1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아자-3'-(2''-포밀에틸)-2',4'-시클로펜타디온의 합성

(3S)-1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아자-3'-(3'',3''-디에톡시프로필)-2',4'-시클로펜타디온 2g과 *p*-toluenesulfonic acid 0.2g을 acetone-H₂O(1:1) 30ml에 넣고 20시간 동안 환류 교반한 후 용매를 감압증발시키고 얻은 잔사를 실리카겔로 관 크로마토그래피(ethyl acetate : MeOH = 60:1)하여 목적 화합물 1.41g을 얻었다.

¹H-NMR (δ, CDCl₃) 2.12 (m, 2H), 2.35 (dd, 2H), 2.55-2.90 (m, 3H), 3.35 - 3.85 (m, 4H), 6.60 (bs, 1H), 7.20 (m, 5H), 9.68 (s, 1H)

1-8. (3S)-3'-N-(3''-히드록시-5''-옥소-6''-에톡시카르보닐헥실)-1',3'-디아자-2',4'-시클로펜타디온-3-스피로-1-N-벤질

피롤리딘의 합성

무수 THF 5 ml에 NaH 0.36g을 slurry한 후 반응 온도를 0°C로 냉각한다. Ethyl acetoacetate 0.46 g(0.45 ml)를 서서히 가한 후 5분간 교반한다. *n*-BuLi (1.6 M soln in hexane) 2.3 ml를 dropwise하고 동일 온도에서 10분간 교반한다 (반응혼합물의 색깔이 붉은색으로 변함). 무수 THF 20 ml에 녹인 출발물질을 동일 온도에서 dropwise하고 실온에서 30분간 교반한다. 포화 NH₄Cl 수용액으로 반응을 quenching하고 Ethyl acetate로 2회 추출 후 유기층을 물과 brine으로 씻어 주고 황산마그네슘으로 건조한 후 감압증발하여 crude한 생성물을 얻었다. CH₂Cl₂/Acetone (6:1)로 Column Chromatography하여 순수한 목적화합물 0.32 g을 얻었다.

¹H-NMR(δ, CDCl₃) 1.24 (t, 3H), 2.0-2.22 (m, 4H), 2.55 (m, 2H)
2.64-2.77 (m, 2H), 3.12 (s, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.46 (s, 2H), 3.65 (q, 2H), 3.88 (m, 1H), 4.13 (t, 2H), 7.30 (m, 5H), 8.39 (s, 1H)

1-9. (3S)-3-N-(3'',5''-디히드록시-6''-에톡시카르보닐실)-1',3'-디아자-2',4'-시클로펜타디온-3-스피로-1-N-벤질피롤리딘의 합성

무수 THF 3 ml에 Triethylborane(1M soln in THF) 0.49 ml를 가하고 실온에서 무수 MeOH 0.95 ml를 가한 후 1시간 동안 교반한다. 반응 온도를 -78°C로 냉각하고 무수 THF 4 ml에 3-N-(3'-히드록시-5'-옥소-6'-에톡시카르보닐헥실)-1,3-디아자-2,4-시클로펜타디온-5-스피로-3-(1-N-벤질)피롤리딘 0.16g을 녹인 용액을 가한 후 동일 온도에서 90 분간 교반한다. NaBH₄ 17.6 mg을 가하고 동일 온도에서 5시간 동안 교반한다. 포화 NH₄Cl 수용액(10 ml)으로 반응을 종결하고 밤새 실온에서 교반한다. 물 5 ml를 가하고 EtOAc로 3회 추출한 후 무수 황산마그네슘으로 건조한 뒤 감압증발하여 얻은 잔사에 MeOH 5 ml를 가하여 다시 감압농축하고 CH₂Cl₂/Acetone (4:1) 전개

용매로 Column Chromatography 하여 상기 목적 화합물 91mg을 얻었다.

¹H-NMR(δ , CDCl₃) 1.24 (t, 3H), 1.56-1.69 (m, 4H), 2.0-2.22 (m, 4H), 2.55 (m, 2H), 2.64-2.77 (m, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.60 (q, 2H), 3.86 (m, 1H), 3.93 (m, 1H), 4.15 (t, 2H), 7.28 (m, 5H), 8.40 (s, 1H)

1-10. (3S)-1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아-3'-[2''-(3-히드록시-5-옥소피라닐)에틸]-2',4'-시클로펜타디온의 합성

무수 THF 10 ml에 3(S)-1-N-(3',5'-디히드록시-6'-에톡시카르보닐헥실)-1,3-디아자-2,4-시클로펜타디온-3-스피로-3-(1-N-벤질)피롤리딘 66 mg을 녹이고 MeOH 1 ml를 가한 후 10 분간 교반한다. 3N-LiOH 수용액 2.7 ml를 가하고 실온에서 밤새 교반한다. 반응용액에 디에틸에테르 10 ml를 가한 후 20분간 교반하고 유기층을 분리한다. 물층에 물 5 ml를 더 가한 후 디에틸에테르로 3회 추출하고 유기층을 섞고 2N-LiOH수용액으로 씻어준다. 수용액층을 6N-HCl 수용액으로 산성화(pH ca.4)한 후 EtOAc로 3회 추출하고 감압증발한 후 CH₂Cl₂을 전개용매로 Column Chromatography하여 목적화합물 36mg을 얻었다.

¹H-NMR(δ , CDCl₃) 1.77-.1.98 (m, 2H), 2.01-2.20 (m, 2H), 2.34-2.43 (m, 4H), 2.67 (q, 2H), 3.24 (s, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.71 (q, 1H), 4.40 (quintet, 1H), 4.71 (m, 1H), 7.31 (m, 5H), 8.46 (s, 1H)

1-11. (3R)-1-N-벤질피롤리딘-3-스피로-1',3'-디아-3'-[2''-(3-히드록시-5-옥소피라닐)에틸]-2',4'-시클로펜타디온

$^1\text{H-NMR}(\delta, \text{CDCl}_3)$ 1.77–1.98 (m, 2H), 2.01–2.20 (m, 2H), 2.34–2.43 (m, 4H), 2.67 (q, 2H), 3.24 (s, 2H), 3.40 (m, 2H), 3.71 (q, 1H), 4.40 (quintet, 1H), 4.71 (m, 1H), 7.31 (m, 5H), 8.46 (s, 1H)

2. 2,4-Difluorophenylisocyanate 의 합성

Triphosgene 6.85g(23mmol)을 methylene chloride에 용해시킨다음 2,4-difluoroaniline 7.2ml(58mmol)을 천천히 가하고 10분간 교반시킨다음 water-bath에서 triethylamine 9.63ml(69mmol)을 천천히 가한다음 1시간동안 교반시킨다. TLC에서 출발물질이 사라지면 물을 가한다음 methylene chloride로 유기층을 추출하고 무수 황산 마그네슘으로 건조 감압 농축한다음 Hexane을 가한 다음, 생성된 고체를 여과하고 용매를 감압 증류한 후 진공건조하여 원하는 2,4-Difluorophenylisocyanate를 4.85g(58%)얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3): \delta$ 6.78–7.11(m, 3H)

MS: m/e(relative intensity) 155(M^+ , 3.9), 129(100)

IR(neat): 2271, 1537 cm^{-1}

3. 2,5-Difluorophenylisocyanate 의 합성

2,5-Difluoroaniline을 실험방법 1과 동일한 방법으로 처리하여 2,5-Difluorophenylisocyanate를 4.67g(55%)얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3): \delta$ 6.76–6.92(m, 2H), 7.03–7.14(m, 1H)

MS: m/e(relative intensity) 155(M^+ , 9.8), 43(100)

IR(neat): 2276, 2247, 1627, 1530 cm^{-1}

4. 2,6-Difluorophenylisocyanate 의 합성

2,6-Difluoroaniline을 실험방법 1과 동일한 방법으로 처리하여 2,6-Difluorophenylisocyanate를 4.93g(59%)얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 6.88–6.99(m, 2H), 7.01–7.19(m, 1H)

IR(neat): 2279, 1546, 1479 cm^{-1}

5. 3,5-Dimethylphenylisocyanate 의 합성

2,5-Dimethylaniline을 실험방법 1과 동일한 방법으로 처리하여 3,5-Dimethylphenylisocyanate를 5.57g(66%)얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 2.24(s, 6H), 6.66(s, 2H), 6.77(s, 1H)

IR(neat): 2268, 1609 cm^{-1}

6. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(4-nitrobenzyl)amine의 합성

(R)-(+)- α -Methylbenzylamine 5ml(39mmol)에 톨루엔 80ml를 가한다음 4-nitrobenzylbromide 8g(47mmol)과 triethylamine 7.8ml(56mmol)을 가하고 밤새 가열 환류시켰다. 물을 가한다음 ether로 추출하고 무수 황산 마그네슘으로 건조 감압 농축한다음 전개용매 (Hex:EA=1:1, R_f =0.63)로 column chromatography하여 N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(4-nitrobenzyl)amine 7.3g(73%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.40(d, J =6.8Hz, 3H), 1.68(s, 1H) 3.78(q, J =6.8Hz, 1H), 7.26–7.36(m, 5H), 7.44(d, J =8.8Hz, 2H), 8.17(d, J =8.8Hz, 2H)

7. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(3-nitrobenzyl)amine의 합성

(R)-(+)- α -Methylbenzylamine 2ml(15mmol)에 톨루엔 35ml를 가한다음 3-nitrobenzylbromide 3.2g(17mmol)과 triethylamine 3.1ml(22mmol)을 가하고 밤새 가열 환류시켰다. 물을 가한다음 ether로 추출하고 무수 황산 마그네슘으로 건조 감압 농축한다음 전개용매 (Hex:EA=1:1, Rf=0.57)로 column chromatography하여 N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(3-nitrobenzyl)amine 2.5g(63%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.40(d, J=6.6Hz, 3H), 1.67(s, 1H), 3.74(s, 2H), 3.83(q, J=6.6Hz, 1H), 7.27-7.50(m, 6H), 7.61(d, 1H), 8.10(d, 1H), 8.19(s, 1H)

8. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-2-yl)methylamine의 합성

Pyridine-2-carboxaldehyde 10.7g(0.1mol)을 톨루엔 60ml에 희석하고 (R)-(-)- α -methylbenzylamine 12.1g(0.1mol)을 천천히 가하고 reflux하여 물을 제거(dean-stark)하였다. 반응이 완결되면 toluene을 완전히 감압 증류하여 제거하고 ethanol 60ml을 가하여 반응혼합물을 녹인다음 ice-water bath에서 NaBH_4 를 소량씩 가한다.(5°C \pm 3 유지) Ice-water bath를 그대로 방치하면서 실온에서 밤새 교반한 다음 반응이 완결되면 ethanol을 감압증류하여 완전히 제거하고 물 20ml를 가한다음 교반하여 미반응 NaBH_4 를 제거하고 ethylacetate로 추출한다. 추출한 유기층을 MgSO_4 로 건조한다음 여과하여 감압건조하고 column chromatography(전개용매 : EA \Rightarrow EA/MeOH=1:1)로 분리하여 순수한 목적 화합물 N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-2-yl)methylamine 12.5g(59%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.40(d, J=6.3Hz, 3H), 2.55(br, 1H), 3.74(s, 2H), 3.84(q, J=6.3Hz, 1H), 7.07-7.39(m, 7H), 7.56(m, 1H), 8.53(m, 1H)

9. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methylamine의 합성

Pyridine-3-carboxaldehyde 10.7g(0.1mol)와 (R)-(-)- α -methylbenzylamine 12.1g(0.1mol)을 실험방법 7과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)-methylamine 15g(71%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.40(d, J=6.6Hz, 3H), 1.60(br, 1H), 3.62(s, 2H), 3.80(q, J=6.3Hz, 1H), 7.20-7.34(m, 6H), 7.62(d, J=7.8Hz, 1H), 8.51(s, 2H)

10. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-4-yl)methylamine의 합성

Pyridine-4-carboxaldehyde 10g(0.1mol)와 (R)-(-)- α -methylbenzylamine 12g(0.1mol)을 실험방법 7과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-4-yl)methylamine 13.8g(65%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.36(d, J=6.8Hz, 3H), 2.25(br, 1H), 3.60(s, 2H), 3.76(q, J=6.8Hz, 1H), 7.18(d, J=4.4Hz, 2H), 7.20-7.34(m, 5H), 8.47(d, J=4.4Hz, 1H)

11. N-Benzyl-N-(pyridine-3-yl)methylamine의 합성

Pyridine-3-carboxaldehyde 10g(0.1mol)와 benzylamine 10.7g(0.1mol)을 실험방법 7과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물

N-Benzyl-N-(pyridine-3-yl)methylamine 15.4g(78%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.68(br, 1H), 3.81(s, 4H), 7.22-7.34(m, 6H), 7.68(d, J=8Hz, 1H), 8.50(m, 1H), 8.57(s, 1H)

12. N-((R)-(+)-α-Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-2,4-difluorophenylurea의 합성

2,4-Difluorophenylisocyanate 500mg(3.22mmol)을 methylene chloride에 녹인 다음 N-((R)-(+)-α-methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methylamine 685mg(3.22mmol)을 가하고 30분동안 상온에서 교반시킨다. 용매를 감압하에서 제거한 후 column chromatography (전개용매 Hex:EA=1:1)로 분리하여 순수한 목적 화합물 1.16g(98%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.60(d, J=7.1Hz, 3H), 4.39-4.61(ABq, J_a=16.8, J_b=41.6, 2H), 5.51(q, J=7.1Hz, 1H), 6.49(m, 2H), 6.82(m, 1H), 7.35(m, 6H), 7.60(d, J=7.8Hz, 1H), 8.00(m, 1H), 8.50(m, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 367(M⁺, 4.3), 105(34), 84(100)

13. N-((R)-(+)-α-Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-2,5-difluorophenylurea의 합성

2,6-Difluorophenylisocyanate 500mg(3.22mmol)와 N-((R)-(+)-α-methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)-methylamine 685mg(3.22mmol)을 실험방법 11과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 1.14g(96%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.60(d, J=7.2Hz, 3H), 4.37-4.67(ABq, J_a=16.6, J_b=43.8, 2H), 5.51(q, J=7.2Hz, 1H), 6.49(m, 1H), 6.78(m, 2H), 7.32(m,

6H), 7.60(d, J=8.0Hz, 1H), 8.00(m, 1H), 8.50(m, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 367(M⁺, 11), 197(39), 105(100)

14. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-2,6-difluorophenylurea의 합성

2,6-Difluorophenylisocyanate 500mg(3.22mmol)와 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)-methylamine 685mg(3.22mmol)을 실험방법 11과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 974mg(82%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.57(d, J=7.2Hz, 3H), 4.32-4.67(ABq, J_a=17.0, J_b=52.8, 2H), 5.58(q, J=7.2Hz, 1H), 6.00(s, 1H), 6.81(m, 2H), 7.32(m, 1H), 7.30(m, 6H), 7.60(d, J=8.0Hz, 1H), 8.42(m, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 367(M⁺, 4.7), 197(98), 105(84), 92(100)

15. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-3,5-dimethylphenylurea의 합성

3,5-Dimethylphenylisocyanate 500mg(3.4mmol)와 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)-methylamine 721mg(3.4mmol)을 실험방법 11과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 1.11g(91%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.60(d, J=6.8Hz, 3H), 2.22(s, 6H), 4.32-4.65(ABq, J_a=17.0, J_b=53.6, 2H), 5.50(q, J=7.2Hz, 1H), 6.17(s, 1H), 6.63(s, 1H), 6.79(s, 2H), 7.35(m, 6H), 7.60(d, J=8.0Hz, 1H), 8.51(s, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 359(M⁺, 30), 197(40), 105(100)

16. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-4-nitrobenzyl-N'-(2-methoxy-pyridine-5-yl)urea의 합성

5-Amino-2-methoxypyridine 59mg(0.475mmol)에 methylene chloride을 가한다음 triphosgene 47mg(0.158)을 천천히 가하고 triethylamine 0.131ml(0.95mmol)을 water-bath에서 서서히 가한다. 1시간 동안 교반시킨다음 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-4-nitrobenzylamine 122mg(0.475mmol)을 methylene chloride에 녹여 가한 다음 30분간 교반시킨다. 물을 가하고 교반하면 고체가 생성된다. 생성된 고체를 여과후 MC로 녹인 다음 물로 세척하고 유기층을 MgSO₄로 건조한 다음 여과하여 감압건조하고 column chromatography(전개용매 : EA)로 분리하여 순수한 목적 화합물 140mg(73%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.60(d, J=7.0Hz, 3H), 3.85(s, 3H), 4.40-4.80(ABq, J_a=17.8, J_b=62.2, 2H), 5.43(q, J=7.0Hz, 1H), 6.19(s, 1H), 6.63(m, 1H), 6.79(s, 2H), 7.38(m, 7H), 7.62(m, 2H), 8.18(d, J=8.8Hz, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 406(M⁺, 15), 241(35), 105(100)

17. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-4-nitrobenzyl-N'-3,5-difluorophenylurea의 합성

3,5-Difluoroaniline 243mg(1.88mmol), triphosgene 186mg(0.627mmol), triethylamine 0.53ml(3.76mmol)과 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-4-nitrobenzylamine 482mg(1.88mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 600mg(77%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.60(d, J=6.8Hz, 3H), 4.45-4.85(ABq, J_a=17.0, J_b=63.4, 2H), 5.37(q, J=6.8Hz, 1H), 6.27(s, 1H), 6.42(m, 1H), 6.71(m, 2H), 7.38(m, 7H), 8.20(d, J=7.0Hz, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 411(M⁺, 8.5), 275(23), 105(100)

18. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-3-nitrobenzyl-N'-3,5-difluoro-phenylurea의 합성

3,5-Difluoroaniline 250mg(1.94mmol), triphosgene 191mg(0.645 mmol), triethylamine 0.54ml(3.88mmol)과 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-3-nitrobenzylamine 497mg(1.94mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 500mg(63%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.60(d, J=7.2Hz, 3H), 4.45-4.83(ABq, J_a=16.6, J_b=58.8, 2H), 5.37(q, J=7.2Hz, 1H), 6.38(m, 2H), 6.73(m, 2H), 7.38(m, 5H), 7.60(m, 2H), 8.13(m, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 411(M⁺, 9.7), 275(25.7), 105(100)

19. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-3,5-difluorophenylurea의 합성

3,5-Difluoroaniline 245mg(1.90mmol), triphosgene 188mg(0.633mmol), triethylamine 0.53ml(3.80mmol)과 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methylamine 403mg(1.90 mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 632mg(90%)을 얻었다.

¹H NMR(CDCl₃): δ 1.57(d, J=6.8Hz, 3H), 4.32-4.70(ABq, J_a=16.6, J_b=58.8, 2H), 5.42(q, J=6.8Hz, 1H), 6.40(m, 1H), 6.63(s, 1H), 6.77(m, 2H), 7.30(m, 6H), 7.60(d, J=8.0Hz, 1H), 8.49(m, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 367(M⁺, 11), 197(100)

20. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-2-yl)methyl-N'-(2-fluoro-5-nitro)phenylurea의 합성

2-Fluoro-5-nitroaniline 380mg(2.43mmol), triphosgene 240mg(0.811mmol), triethylamine 0.68ml(4.87mmol)과 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-(pyridine-2-yl)methylamine 517mg(2.43 mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 690mg(72%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.60(d, J=7.0Hz, 3H), 4.16-4.41(ABq, $J_a=15.6$, $J_b=32.2$, 2H), 5.84(q, J=7.0Hz, 1H), 6.35(d, J=7.6Hz, 1H), 7.26(m, 7H), 7.42(m, 1H), 7.82(m, 1H), 8.53(d, J=8.0Hz, 1H), 9.14(m, 1H)

MS: m/e(relative intensity) 394(M^+ , 0.3), 120(38), 93(100)

21. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-(2-fluoro-5-nitro)phenylurea의 합성

2-Fluoro-5-nitroaniline 308mg(1.97mmol), triphosgene 195mg(0.657mmol), triethylamine 0.55ml(3.94mmol)과 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methylamine 4.18mg(1.97 mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 590mg(76%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.60(d, J=6.8Hz, 3H), 4.43-4.74(ABq, $J_a=17.4$, $J_b=44.2$, 2H), 5.50(q, J=6.8Hz, 1H), 6.58(s, 1H), 7.05(m, 1H), 7.35(m, 7H), 7.61(m, 1H), 7.82(m, 1H), 8.56(s, 2H), 9.15(m, 1H)

MS: m/e(relative intensity) 394(M^+ , 1.0), 197(27), 105(100), 92(73)

22. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-4-yl)methyl-N'-(2-fluoro-5-nitro)phenylurea의 합성

2-Fluoro-5-nitroaniline 322mg(2.06mmol), triphosgene 204mg(0.687 mmol), triethylamine 0.57ml(4.12mmol)과 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-(pyridine-4-yl)methylamine 437mg(2.06 mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 651mg(80%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.60(d, J=7.0Hz, 3H), 4.37-4.69(ABq, $J_a=17.0$, $J_b=45.6$, 2H), 5.58(q, J=7.0Hz, 1H), 6.56(s, 1H), 7.05-7.40(m, 8H), 7.82(m, 1H), 8.59(m, 2H), 9.16(m, 1H)

MS: m/e(relative intensity) 394(M^+ , 1.3), 197(100)

23. N-Benzyl-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-3,5-difluorophenylurea의 합성

3,5-Difluoroaniline 246mg(1.91mmol), triphosgene 188mg(0.633mmol), triethylamine 0.53ml(3.80mmol)과 N-benzyl-N-(pyridine-3-yl)-methylamine 378mg(1.91mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 378mg(55%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 4.51(s, 2H), 4.65(s, 2H), 6.42(m, 1H), 6.75(s, 1H), 6.80(m, 2H), 7.22-7.43(m, 6H), 7.72(d, J=3.8Hz, 1H), 8.52(m, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 353(M^+ , 22), 91(100)

24. N-Benzyl-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-(2-methoxy-pyridine-5-yl)urea의 합성

5-Amino-2-methoxypyridine 305mg(2.45mmol), triphosgene 242mg(0.818 mmol), triethylamine 0.68ml(4.9mmol)과 N-benzyl-N-

(pyridine-3-yl) methylamine 486mg(2.45mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 155mg(18%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 3.86(s, 3H), 4.52(s, 2H), 4.65(s, 2H), 6.45(s, 1H), 6.66(d, $J=8.8\text{Hz}$, 1H), 7.23-7.39(m, 6H), 7.68(m, 2H), 7.79(m, 1H), 8.53(s, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 348(M^+ , 25), 91(100)

25. N-Benzyl-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-3,5-dimethylphenylurea의 합성

3,5-Dimethylisocyanate 343mg(2.33mmol)와 N-benzyl-N-(pyridine-3-yl) methylamine 462mg(2.33mmol)을 실험방법 12과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 738g(92%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 2.23(s, 6H), 4.50(s, 2H), 4.64(s, 2H), 6.62(m, 2H), 6.91(s, 2H), 7.26-7.39(m, 6H), 7.68(m, 2H), 8.50(s, 2H)

MS: m/e(relative intensity) 345(M^+ , 37.7), 107(52.5), 91(100)

26. N-Benzyl-N-(pyridine-4-yl)methyl-N'-(2-fluoro-5-nitro)phenylurea의 합성

2-Fluoro-5-nitroaniline 306mg(1.96mmol), triphosgen 194mg(0.653 mmol), triethylamine 0.54ml(3.92mmol)과 N-Benzyl-N-(pyridine-4-yl)methylamine 388mg(1.96mmol)을 실험방법 16과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적 화합물 679mg(91%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 4.58(s, 2H), 4.73(s, 2H), 6.80(m, 1H), 7.10(t, 1H), 7.27-7.43(m, 6H), 7.71-7.89(m, 2H), 8.57(m, 2H), 9.13(m, 1H)

MS: m/e(relative intensity) 381(M^+ , 4.2), 107(39), 91(100)

27. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-2,4-difluorophenylurea hydrochloride의 합성

N-((R)-(+)-Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-2,4-difluorophenylurea를 methylene chloride에 녹인 다음 hydrogen chloride gas를 가한다음 20분동안 교반시킨다. 용매를 감압하에서 (bath온도:10°C ~ 15°C)제거하고 잔사를 vaccum pump하에서 건조 후 ether를 가하여 생성된 salt를 여과후 건조시켜 목적 화합물을 얻었다.

¹H NMR(D₂O): δ 1.58(d, J=7.0Hz, 3H), 4.32-4.71(ABq, 2H), 5.43(q, J=7.0Hz, 1H), 6.92(m, 2H), 7.13-7.29(m, 6H), 7.72(m, 1H), 8.14(m, 2H), 8.39(d, 1H)

28. N-(Pyridine-3-yl)methyl-N'-2,5-difluorophenylurea hydrochloride의 합성

N-((R)-(+)-Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-2,5-difluorophenylurea에 녹인 다음 hydrogen chloride gas를 가한다음 20분동안 교반시킨다. 용매를 감압하에서(bath온도:35°C ~ 50°C)제거하고 잔사를 vaccum pump하에서 건조 후 ether를 가하여 생성된 salt를 여과후 건조시켜 목적 화합물을 얻었다.

¹H NMR(D₂O): δ 4.47(s, 2H), 6.72(m, 1H), 7.02(m, 1H), 7.29(m, 1H), 7.91(m, 1H), 8.45(m, 1H), 8.60(m, 2H)

29. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-2,6-difluorophenylurea hydrochloride의 합성

N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-2,6-

difluorophenylurea를 실험방법 28과 동일한 방법으로 처리하여 salt를 합성하였다.

^1H NMR(D_2O): δ 1.57(d, $J=6.8\text{Hz}$, 3H), 4.32-4.70(ABq, 2H), 5.47(q, $J=6.8\text{Hz}$, 1H), 6.92(m, 2H), 7.20(m, 6H), 7.71(m, 1H), 8.11(m, 2H), 8.38(d, 1H)

30. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-3,5-dimethylphenylurea hydrochloride의 합성

N-((R)-(+)-Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-3,5-dimethylphenylurea를 실험방법 27과 동일한 방법으로 처리하여 salt를 합성하였다.

^1H NMR(D_2O): δ 1.68(d, $J=7.0\text{Hz}$, 3H), 2.27(s, 6H), 4.42-4.86(ABq, 2H), 5.65(q, $J=7.0\text{Hz}$, 1H), 6.74(s, 1H), 7.03(s, 2H), 7.22-7.42(m, 5H), 7.85(m, 1H), 8.23(d, 2H), 8.41(s, 1H), 8.60(d, 1H)

31. N-4-Nitrobenzyl-N'-(2-methoxy-pyridine-5-yl)urea hydrochloride의 합성

N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-4-nitrobenzyl-N'-(2-methoxy-pyridine-5-yl)urea를 실험방법 29과 동일한 방법으로 처리하여 salt를 합성하였다.

^1H NMR(CD_3OD): δ 4.15(s, 3H), 4.52(s, 2H), 7.50(m, 3H), 8.20(m, 3H), 8.61(m, 1H)

32. N-(Pyridine-3-yl)methyl-N'-3,5-difluorophenylurea hydrochloride의 합성

N-((R)-(+)-Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-3,5-difluorophenylurea를 실험방법 28과 동일한 방법으로 처리하여 salt를 합성하였다.

$^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O})$: δ 4.45(s, 2H), 6.47(m, 1H), 6.80(m, 2H), 7.88(m, 1H), 8.40(d, 1H), 8.59(m, 2H)

33. N-(Pyridine-3-yl)methyl-N'-(2-fluoro-5-nitro)phenylurea hydrochloride의 합성

N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-(2-fluoro-5-nitro)phenylurea를 MeOH에 녹인 다음 28% MeOH · HCl를 가한 다음 30분 동안 교반시킨다. 용매를 감압하에서(bath 온도:40°C ~45°C) 제거하고 잔사를 vaccum pump하에서 건조 후 MeOH:ether를 가하여 생성된 salt를 여과 후 건조시켜 목적 화합물을 합성하였다.

$^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O})$: δ 4.50(s, 2H), 7.20(m, 1H), 7.88(m, 2H), 8.43(m, 2H), 8.59(m, 2H)

34. N-(Pyridine-4-yl)methyl-N'-(2-fluoro-5-nitro)phenylurea hydrochloride의 합성

N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-4-yl)methyl-N'-(2-fluoro-5-nitro)phenylurea를 실험방법 33과 동일한 방법으로 처리하여 salt를 합성하였다.

$^1\text{H NMR}(\text{D}_2\text{O})$: δ 4.57(s, 2H), 7.22(m, 1H), 7.86(m, 3H), 8.45(m, 1H), 8.57(d, 2H)

35. N-Benzyl-N-[3-(pyrazol-3-yl)benzyl]-N'-[2,4-bis(methylthio)-6-methylpyridin-3-yl]urea의 합성

35-1. 3-(pyrazol-3-yl)benzaldehyde의 합성

1) 3-(3-(dimethylamino)-1-oxo-2(E)-propenyl)benzotrile의 합성

3-Acetylbenzotrile 18 gr과 N,N-dimethylformamide dimethyl acetal 32.8 ml의 혼합물을 90°C에서 2시간 가열하고 냉각시킨 후 과량의 시약들을 중발제거시키고 펜탄으로 세척하여 3-(3-(dimethylamino)-1-oxo-2(E)-propenyl)benzotrile 19.6gr을 얻었다.

¹H-NMR(DMSO-d₆) : 2.96(3H, s), 3.17(3H, s), 5.92(1H, d, J=12.1 Hz), 7.65(1H, dd, J=7.8, 7.8 Hz), 7.78(1H, d, J=12.1 Hz), 7.88-8.00(1H, m), 8.14-8.26 (1H, m), 8.34(1H, s)

MS m/z : 201(MH⁺)

2) 3-(pyrazol-3-yl)benzotrile의 합성

메탄올 200ml에 3-(3-(dimethylamino)-1-oxo-2(E)-propenyl)benzotrile 21.7 gr을 녹인 용액에 빙초산 24 ml와 히드라진수화물 7.88 gr을 5°C에서 가한다. 반응 혼합물을 실온에서 24시간 교반한 후 용매를 감압증발시킨다. 잔유물을 EtOAc에 녹여 포화탄산수소나트륨, 물, 소금물순으로 세척하고 무수 황산마그네슘으로 건조시킨 후 용매를 증발시켜 3-(pyrazol-3-yl)benzotrile 18.36gr을 얻었다.

¹H-NMR(DMSO-d₆) : 6.89(1H, dd, J=2.0, 2.2 Hz), 7.61(1H, dd, J=7.8, 7.8 Hz), 7.68-7.80(1H, m), 7.84(1H, dd, J=2.0, 2.2 Hz), 8.12-8.30(3H, m), 13.08, 13.46(1H, m)

MS m/z : 170(MH⁺)

3) 3-(pyrazol-3-yl)benzaldehyde의 합성

3-(pyrazol-3-yl)benzotrile 18.30gr을 개미산 360ml에 현탁시키고 Raney Ni현탁액 180 ml을 가한 혼합물을 3시간동안 환류시킨 후 실온으로 냉각시켜 Raney Ni을 여과한 후 개미산 100ml로 세척하여 모은 여과액을 부피가 200 ml가 될 때까지 감압증발시키고 잔유물에 MC 200 ml를 가한다. 이 용액을 얼음중탕으로 냉각하면서 5N NaOH로 pH 8-9로 맞추어 불용의 물질을 여과제거하고 유기 여과액을 분취하고 수용액을 MC로 추출하여 유기층을 모아 물, 소금물순으로 세척하고 무수 황산마그네슘으로 건조하고 감압증발시키고 얻은 잔유물을 실리카관크로마토그래피(MC:MeOH, 20:1)하여 3-(pyrazol-3-yl)benzaldehyde 20.8gr을 얻었다.

$^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)}$: 6.84(1H, d, $J=2.2$ Hz), 7.64(1H, dd, $J=7.5, 7.5$ Hz), 7.70-7.95(2H, m), 8.15(1H, d, $J=7.5, 7.5$ Hz), 8.34(1H, s), 10.07(1H, s), 13.03(1H, m)

MS m/z : 173(MH^+)

35-2. N-Benzyl-N-3-(pyrazol-3-yl)benzylamine의 합성

3-(pyrazol-3-yl)benzaldehyde 11.2 gr과 benzylamine 8.52 ml을 toluene 100ml에 넣고 5시간동안 환류교반하였다. 반응 혼합물을 실온으로 냉각시키고 용매를 감압증발시켰다. 잔유물을 에탄올 150 ml에 현탁시키고 NaBH_4 를 얼음 냉각하면서 조심스럽게 가하고 50°C 에서 1시간 교반한 후 다시 실온에서 2시간 더 교반하고 용매를 증발시켰다. 잔유물에 물 60 ml를 가하고 MC로 추출하여 실리카겔 칼럼크로마토그래피(MC-MeOH, 10:1)하여 목적화합물 14.4 gr을 얻었다.

$^1\text{H-NMR(DMSO-d}_6\text{)}$: 3.71(2H, s), 3.72(2H, s), 4.49(4H, s), 6.68

(1H, d, J=2.1 Hz), 7.15-7.42(7H, m), 7.50-7.90(3H, m), 12.85, 13.22(1H, m)

IR(KBr) : 3310, 3246-2290(br), 1606, 1543, 1441, 1354 cm^{-1}

MS m/z : 264(MH⁺)

35-3. N-Benzyl-N-[3-(pyrazol-3-yl)benzyl]-N'-[2,4-bis(methylthio)-6-methylpyridin-3-yl]urea(FR186054)의 합성

실온에서 N-Benzyl-N-3-(pyrazol-3-yl)benzylamine 5.4gr과 triethylamine 14.3ml을 Toluene 150ml에 가한 용액에 phenyl N-[2,4-bis(methylthio)-6-methylpyridin-3-yl]carbamate 6.24.gr을 가하고 24시간 교반하였다. 반응 용매에서 생성된 결정을 여과하여 목적 화합물 7.4gr을 얻었다.

mp : 209-210 °C

¹H-NMR(DMSO-d₆) : 2.42(6H, s), 2.46(3H, s), 4.49(4H, s),
6.67(1H, br s), 6.90(1H, s), 7.18-7.90(10H, m), 8.29(1H,s) 12.88, 13.30(1H, m)

IR(KBr) : 3390, 3246, 2920, 1651, 1562, 1489, 1228 cm^{-1}

MS m/z : 490(MH⁺)

36. N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-(2,4,6-triiodo-3,5-dimethyl)phenylurea의 합성

36-1 2,4,6-triiodo-3,5-Dimethylaniline의 합성

디클로로메탄 300 ml와 메탄올 120 ml의 혼합용액에 1-아미노-3,5-디메틸벤젠 6.23ml을 넣고, 벤질트리메틸암모늄아이오도클로리드 (PhCH₂N⁺(CH₃)₃ICl₂⁻)53.95g과 칼슘카보네이트(CaCO₃) 19.02g을 첨가한 후 실온에서 40분 동안 교반한다. 반응혼합물을 여과하여 녹지않은 고체는 제거하고 여액을 감압농축한다. 잔유물을 물 200ml

에 가하고 포화 소듐비카보네이트(NaHCO_3)수용액으로 염기화한 후 에틸아세테이트 100ml로 3회 추출한다. 유기층을 무수 마그네슘 설페이트로 건조 후 감압농축하고, 메탄올-물 혼합용액으로 재결정하여 갈색 고체의 상기 목적화합물 22.2g(91%)를 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 2.11(s, 3H), 2.12(s, 3H)

36-2 2,4,6-triiodo-3,5-Dimethylphenylisocyanate의 합성

Triphosgen 6.85g(23mmol)을 methylene chloride에 용해시킨다음 2,4,6-triiodo-3,5-Dimethylaniline 7.2ml(51mmol)을 천천히 가하고 10분간 교반시킨 다음 water-bath에서 triethylamine 8.43ml(51mmol)을 천천히 가한다음 1시간동안 교반시킨다. TLC에서 출발물질이 사라지면 물을 가한 다음 methylene chloride로 유기층을 추출하고 무수 황산 마그네슘으로 건조하고 감압 농축한 다음 Hexane을 가하여 고체를 여과하고 용매를 감압 증류, 건조하여 원하는 2,4,6-triiodo-3,5-Dimethylphenylisocyanate를 4.85g(58%)얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 2.12(s, 3H), 2.14(s, 3H)

36-3 N-((R)-(+)- α -Methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)methyl-N'-(2,4,6-triiodo-3,5-dimethyl)phenylurea의 합성

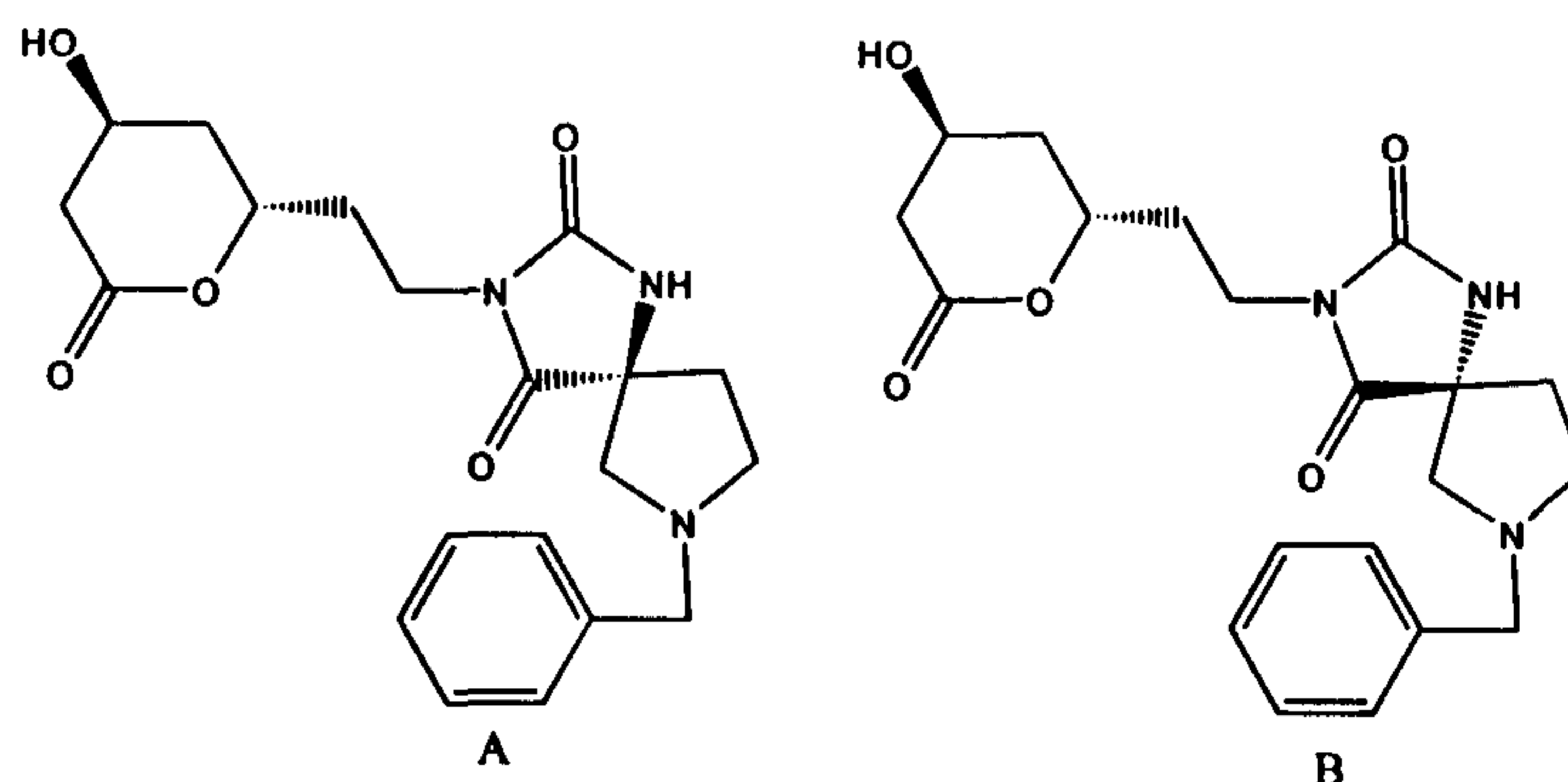
2,4,6-triiodo-3,5-Dimethylphenylisocyanate 700mg(3.2mmol)와 N-((R)-(+)- α -methylbenzyl)-N-(pyridine-3-yl)-methylamine 701mg(3.2mmol)을 실험방법 11과 동일한 방법으로 처리하여 순수한 목적화합물 1.21g(89%)을 얻었다.

$^1\text{H NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 1.60(d, $J=6.8\text{Hz}$, 3H), 2.22(m, 12H), 4.32-4.65(ABq, $J_a=17.0$, $J_b=53.6$, 2H), 5.50(q, $J=7.2\text{Hz}$, 1H), 6.17(s, 1H), 6.63(s, 1H), 7.35(m, 6H), 7.60(d, $J=8.0\text{Hz}$, 1H), 8.51(s, 2H)

제 4장 연구개발 목표 달성도 및 대외 기여도

가. 연구개발 목표의 달성도

1. ACAT 저해제 후보화합물의 분자 설계 - 수집된 자료를 바탕으로 Urea계의 신규한 화합물을 설계 및 합성하였으며, 2건의 특허를 출원하였음.
2. ACAT 저해제 대조화합물 합성
3. 광학 이성체 hydantoin moiety를 갖는 선도화합물(A, B)를 다량 합성하였음.



4. 설계된 화합의 합성 - 20개의 신규한 화합물을 합성하였음.
5. 신규 urea유도체들의 ACAT inhibitory activity(IC₅₀)
ACAT inhibitory activity(IC₅₀)검색을 위해 생명(연)과 협의하고 있음

나 . 대외기여도

1. Cholesterol생합성에 관여하는 효소의 저해제 개발에 관한 기업체의 연구개발을 유도하였음.
2. Cholesterol 생합성에 관여하는 효소의 저해제 개발에 관한 자료를 공급하고 있음.
3. 특허 2건(한국특허 98-11451, 11452)을 출원하였음.

제 5 장 연구개발 결과의 활용계획

1. 특허출원으로 기술 보호
2. 축적된 Know-how를 다른 분야의 효소저해제 신약개발에 활용 함.
3. 분자설계, 합성기술, 물질구조, 물질분리 및 정제기술, 활성검색기술, 안전성 검색기술, 약리시험 등의 핵심요소기술을 기업체에 전파 함.

제 6 장 참고문헌

- 1) Avigan, J., Bathena, S.J., *J. Lipid Res.*, 1975, 16, 151
- 2) D.R. Illingworth, *Drugs of Today*, 1993, 29(3), 201
- 3) P.H. Jones, et. al., *Clin. Pharmacokinet.*; 1994, 27(2), 194
- 4) *Drug of the Future*, 1987, 12(5), 437
- 5) *Drug of the Future*, 1988, 13(6), 531
- 6) *Pharma Japan*, 1996, 1494
- 7) *SCRIP'S 95YEARBOOK*
- 8) V.G. DeVries, et.al., *J. Med. Chem.* 1989, 32, 2318
- 9) Akira Tanaka, et. al., *J. Med. Chem.* 1998, 41, 2390
- 10) K, Tanaka, et. al., *Tetrahedron Asymmetry*, 1996, 6, 1641
- 11) M, Hashimoto, et. al., *Chemistry Lett.* 1986, 5, 893

β_3 -Adrenoceptor Agonist 개발연구

Study for the Development of β_3 -Adrenoceptor Agonist

담당책임연구원 : 최 중권
연구원 : 염 울균, 김 성수,
강 승규, 김 선영

여 백

제 출 문

과 학 기 술 부 장 관 귀 하

본 보고서를 “Terpene 화합물의 생리활성 탐색연구” 과제 (세부과제명: β_3 -Adrenoceptor agonist의 개발)의 보고서로 제출합니다.

1998. 12

책 임 연 구 원	:	염	을	균
책 임 연 구 원	:	최	중	권
책 임 연 구 원	:	김	성	수
기 술 기 능 원	:	강	승	규
연 구 생	:	김	선	영

여 백

요 약 문

I. 제 목

β_3 -Adrenoceptor agonist 개발연구

II. 연구개발의 목적 및 필요성

2000년대에 유망한 당뇨병 및 비만치료제로 예측되는 β_3 -Adrenoceptor agonist를 이용한 치료제의 개발로 우리의 독자적인 신약연구개발기술을 구축하여 국제 경쟁력 확보.

III. 연구개발의 내용 및 범위

당뇨병 및 비만치료제의 연구에서 β_3 -adrenoceptor에 작용을 나타내는 것으로 알려진 β -aminoalcohol에 헤테로 고리를 도입하였다. 피리딘의 케톤이나 알데히드와 phenylethanolamine을 축합하고 수소화반응을 하거나 2-aminoethoxypyridine과 styrene oxide를 반응시켰다. 한편 피리딘의 선택적인 cyanation 방법도 개발되었다.

IV. 연구개발결과

합성된 화합물들이 기대이상의 *in vitro* 활성과 선택성을 보였다. 학회발표 3건과 학술지에 논문 2편도 발표하였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

향후 약효와 선택성의 최적화 연구를 계속하여 특허를 출원하고 개발을 추진할 수 있다.

여 백

SUMMARY

I. Title

Development of β_3 -Adrenoceptor Agonists

II. The Purpose and Necessity of the Research

Through development of β_3 -Adrenoceptor agonists, expected to be treatment for diabetes or obesity in the 21st century, our own ability of new drug development and technological competitiveness will be established.

III. The Scope and Contents of the Research

Introduction of heterocycles into β -aminoalcohols, known to interact with β_3 -adrenoceptor, was attempted by reaction of phenylethanolamines with heterocyclic ketones or aldehydes followed by hydrogenation, or by reaction of 2-aminoethoxypyridines with styrene oxides. For the synthesis of noble heterocycles, a regioselective cyanation of pyridines was developed.

IV. The Result of the Research

New compounds have been prepared and showed desirable *in vitro* activities and selectivity. Three conference presentations and publication of two papers have been accomplished.

V. Plan for Use of the Research Result

Through optimization of the *in vitro* activity and improvement of selectivity, application for patents will follow.

여 백

CONTENTS

1. Introduction	-----	201
2. Research Trends	-----	203
3. Results and Discussion	-----	211
가. Discussion	-----	211
나. Results	-----	215
다. Synthesis	-----	216
라. Assay	-----	243
4. Accomplishments	-----	248
5. Future Plan	-----	250
6. References	-----	251

여 백

목 차

1. 서 론 -----	201
2. 국내외 기술개발 현황 -----	203
3. 연구수행 내용 및 결과	
가. 연구내용 -----	211
나. 연구결과 -----	215
다. 합성 -----	216
라. 약효 측정 방법 -----	243
4. 연구개발 목표달성도 및 대외기여도 -----	248
5. 연구개발결과의 활용계획 -----	250
6. 참고문헌 -----	251

여 백

1. 서 론

당뇨병은 대부분의 경우 초기증상이 뚜렷하지 않아 환자 자신이 질병을 인식하지 못하는 사이 병이 진행되기 때문에 합병증 (당뇨병성 망막병증, 당뇨병성 신증, 당뇨병성 신경, 심맥관계장애)의 발병으로 선진국가에서 4번째의 사망원인이며 급속도로 증가되는 추세에 있다. 세계보건기구 통계에 따르면 당뇨병으로 진단된 환자가 1985년에 3000만 명이었던 것이 1996년에는 1억2천만 명으로 추정되며 초기증상이 쉽게 인식되지 못하기 때문에 같은 정도의 환자가 진단을 받지 않는 것으로 예상되어 세계인구의 5 %가 당뇨병환자로 추정되고 있다. 한편 국내에서도 당뇨병에 의한 사망이 1988년도부터 10대 사망원인의 하나가 되었다.¹

통계적으로 전국민의 약 5 %인 (200여만 명)이 당뇨병으로 고생하는 것으로 발표되었으며 수명의 연장과 영양, 위생환경, 서구화된 식생활, 운동부족으로 그 발병률이 계속 증가하는 추세이다. 따라서 효능과 부작용이 개선된 당뇨병 및 비만 치료제의 개발을 통하여 고부가가치의 의약산업에 필요한 기초기술의 기반을 마련하는 동시에 국가 보건의료비의 총체적인 절감이 유도될 것이며, 국민의 건강증진에도 기여할 것으로 예상된다.

다른 한편 1994-2010년 사이의 세계적인 당뇨병의 발병증가 추이는 2000년에는 1억 7천5백만 명에 달할 것으로 예상되며 2010년에는 약 2억4천만 명에 이를 것으로 예상된다. 가장 높은 당뇨병의 증가율을 보일 지역은 아시아와 아프리카로 2010년까지 3배의 증가를 보일 것으로 예상된다고 보고하고있다.

	1994	2000	2010
World	110,375	175,455	239,349
Africa	5,300	12,091	18,823
Asia	53,426	94,856	138,244
North Africa	15,085	16,976	18,868
Latin America	12,605	16,469	20,248
Europe	18,460	23,714	27,994
Former USSR	6,636	10,251	13,852
Oceania	864	1,098	1,320

자료: McCarty & Zimmet (1994)

따라서 본 연구팀에서는 2000년대에 유망한 당뇨병 및 비만치료제로 예측되는 β_3 -Adrenoceptor agonist를 이용한 치료제의 개발로 우리의 독자적인 신약연구 개발기술을 구축하여 국제 경쟁력을 확보하며 정밀화학 분야에 선진화의 기틀을 마련하고자 한다.

2. 국내·외 연구개발현황

당뇨병 (Diabetes Mellitus)은 크게 인슐린 의존성 당뇨병 (IDDM)과 인슐린 비의존성 당뇨병 (NIDDM)으로 구분된다. 인슐린 의존성 당뇨병은 유전적 요소, 췌장 베타세포에 대한 바이러스감염, 자가면역질환, 성장, 사춘기발현, 독성물질 등의 환경적 여러 인자들에 의하여 복합적인 상호작용에 의해 발병된다. 당뇨병 발병이 급격히 진행되고 케토시스 경향이 있으며 췌장 베타세포의 파괴로 인한 절대적인 인슐린 부족으로 생명을 유지하기 위하여서는 반복적인 인슐린 투여가 반드시 필요하다.²

인슐린 치료의 부작용으로 저혈당 (hypoglycaemia), 인슐린과민성, 면역학적 인슐린 저항성, 지방위축, 국부전신알레르기, 인슐린부종, 패혈증 등이 나타나고 있어 이와 같은 부작용을 극복하고 당의 항상성 (homeostasis)을 유지하기 위해 인슐린 주입법에 관한 연구가 최근 급속히 이루어졌으며 패쇄루프장치, 인슐린펌프 (insulin pump), 인슐린 주사기 (insulin syringe)에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.² 다른 한편으로 현재 상업적으로 이용되는 인슐린이 self-association으로 인하여 흡수가 나쁘기 때문에 흡수가 빠른 인슐린 개발을 위한 인슐린 유도체에 대한 연구가 활발히 진행되고 있다.³ 최근 Lispro (Humalog)의⁴ 사용이 남아프리카공화국 및 러시아에서 승인되었으며 amylin blocker가 인슐린 의존성 당뇨병에는 약효가 있으나 인슐린 비의존성 당뇨병에는 약효가 없는 것으로 나타났다.⁵

인슐린 비의존성 당뇨병 (NIDDM)은 수명의 연장과 영양, 위생 환경향상, 서구화된 식생활 및 생활방식에 의하여 급속히 증가하고 있다. 병리형태는 기저상태와 자극에 대한 인슐린분비이상, 간에서의 내인성 포도당 생성의 증가, 말초조직에서 당이용률 저하이다. 인슐린 비의존성 당뇨병의 치료는 식사요법, 운동요법과 함께 혈당강하제의 투여로 혈당조절이 가능하다.

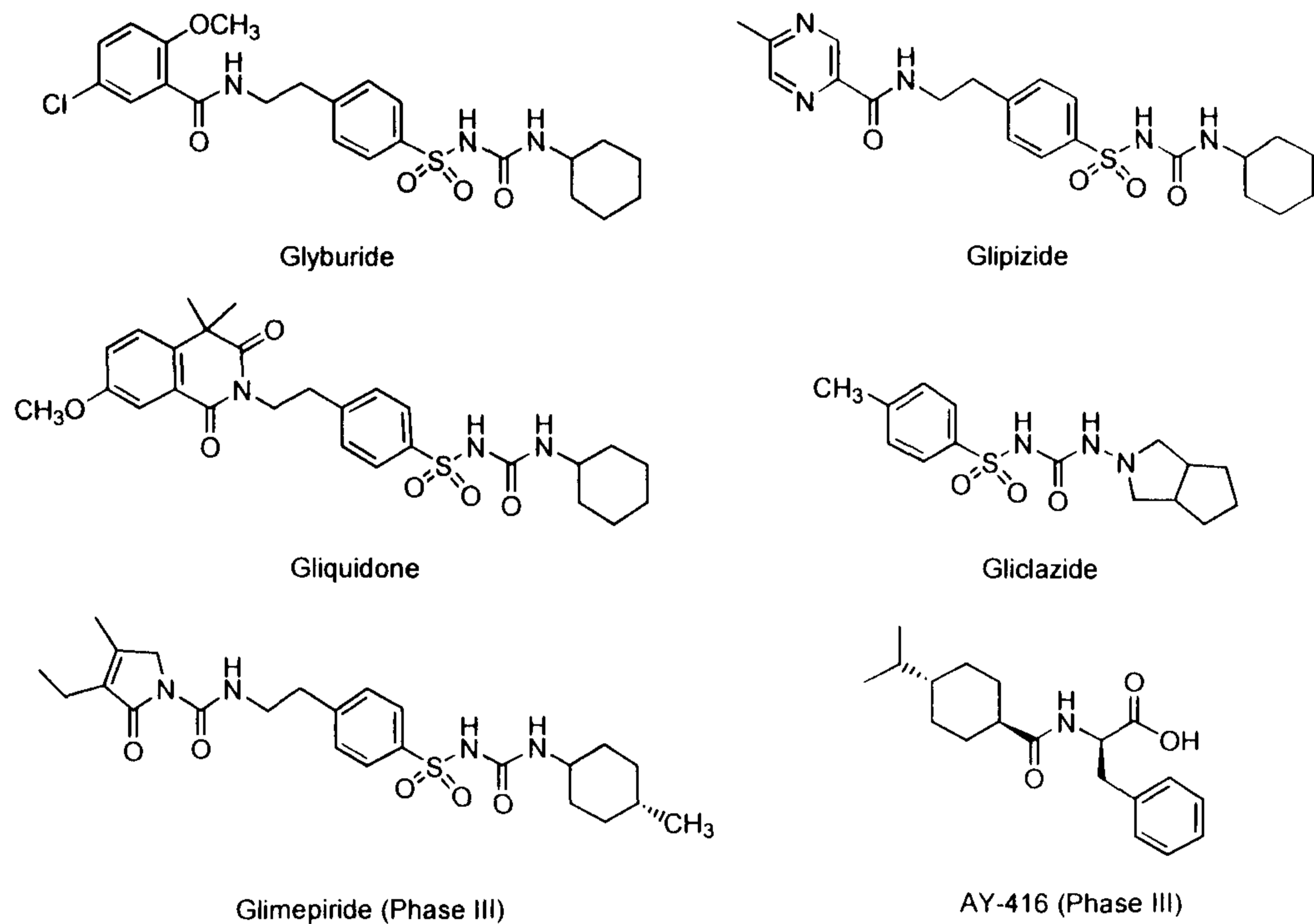


표 1 . 설펜 요소계 당뇨병 치료제

현재 널리 쓰이고 있는 치료약물로는 설펜요소계 약물이 주종을 이루고 있으며 초기에는 1세대 약제 (Tolbutamide, Chlorpropamide, Acetohexamide, Tolazamide)가 널리 사용되었으나 최근에는 제2세대

설펜요소 (Glyburide, Glipizide, Gliquidone, Gliclazide)의 사용이 증가하고 있으며 Glimepiride (임상 3상) 및 AY-416 (임상 2상)등이 개발중에 있다. 대표적인 sulfonyl urea 유도체는 위와 같다 (표 1).⁶

하지만 UK Prospective Diabetes Study 발표에 의하면 설펜요소제 빈용으로 췌장의 β 세포의 작용이 감소하여 당뇨병이 전진적으로 발병하며 심한 저혈당이 발생하는 것으로 보고하고 있으며 현재 각 기관에서 관찰된 부작용은 다음과 같다.

- 혈액 : 무과립구증, 골수형성부전, 적혈구 형성부전, 용혈성빈혈
- 피부 : 발진, 소양증, 결정성홍반, 다형성홍반, 스티븐스-존스 증후군
- 위장관 : 구역, 구토, 간기능 장애, 황달
- 혈관 : 홍조, 빈맥, 두통
- 심맥관계 : 맥관염

최근 α -Glucosidase 저해제로 Acarbose (Glucobay), Miglitol, Voglibose 등이 신약으로 개발되었으며 이들은 일차적으로 소장에서 복합탄수화물의 소화와 흡수를 지연시키고 인슐린 비의존성의 특징인 식후고혈당 (Postprandial Hyperglycaemia)과 고인슐린증을 감소시키는 작용을 한다. α -Glucosidase 저해제의 부작용은 복부팽만감, 구역, 설사 등이 대표적이다.

Acarbose가 FDA승인을 받아 시판중이지만 이 약제 투여 후 장폐색 약상, 복부 팽만, 고창 (flatulence), 저혈당, 설사 등의 부작용이 최근 일본의 보건성 제약담당국에서 발행된 “최근 부작용” 공보지 (No. 129)에 보고되어 있다. 대표적인 α -Glucosidase 저해제는 다음과 같다 (표 2).

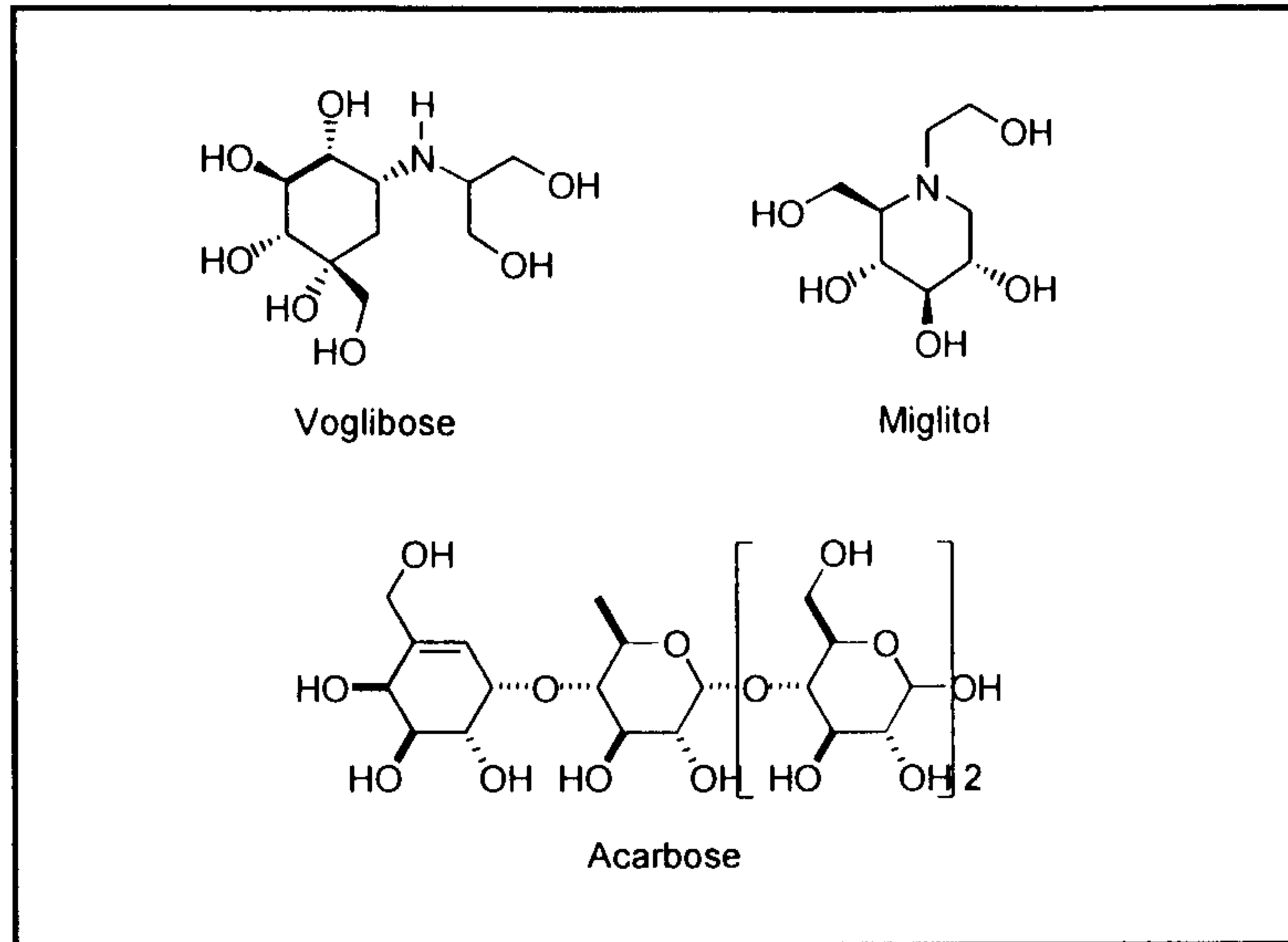


표 2. 발매중인 α -Glucosidase 저해제.

최근 인슐린의 작용을 증가시키기 위한 인슐린 작용 증가제 (Euglycemic agent)가 개발되고 있으며 1996년에 발매된 Sankyo의 Troglitazone이 미국과 일본에서 한정적 판매를 하고 있으나 영국에서는 심혈관계 환자의 사망으로 판매가 중단되었다. 이의 유도체인 thiazolidinedione 계통의 조절제가 개발되고 있으나 아직 시판되지 않고 있기 때문에 부작용 사례는 발표되지 않고 있다. 전문가들은 Thiazolidinedione 계통의⁷ 화합물이 NIDDM을 치료하는데 현재로서는 가장 좋은 화합물로 추측되지만 설폰요소 계통의 약제보다 혈당을 조절하는데 많은 유리한 점이 있는지는 의문을 가지고 있다.² Thiazolidinedione 계통의 대표적 화합물은 다음과 같다 (표 3).

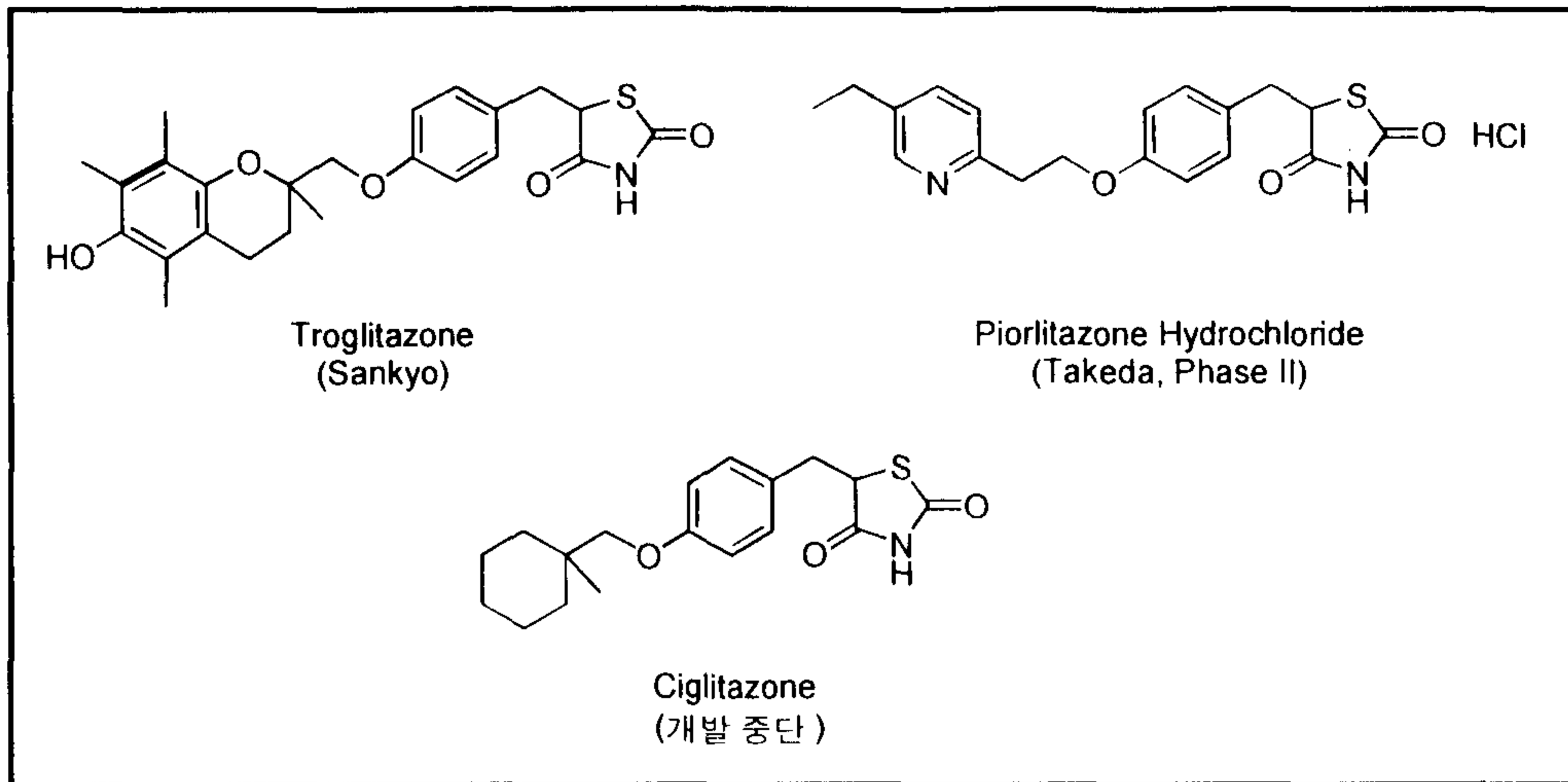


표 3. 인슐린 작용 증가제

서구화된 식생활로 필요이상으로 많은 영양분을 섭취하는 반면 운동량은 부족해 비만이 늘고 있으며 비만은 당뇨병의 근원이라고 알려져 있어 많은 전문가들이 장래의 당뇨병 연구분야가 비만을 줄이고 혈당을 조절하는 방향으로 진행되어야 한다고 생각하고 있다.⁸ 실제로 세계의 유수 제약회사들은 비만을 치료함으로써 이에 수반되는 당뇨병, 고혈압, 고콜레스테롤 혈증 등의 다른 대사성 질환의 원인들을 치료하려는 시도를 활발히 진행하고 있는데 우리 몸의 대사를 도표로 요약하면 다음과 같다.

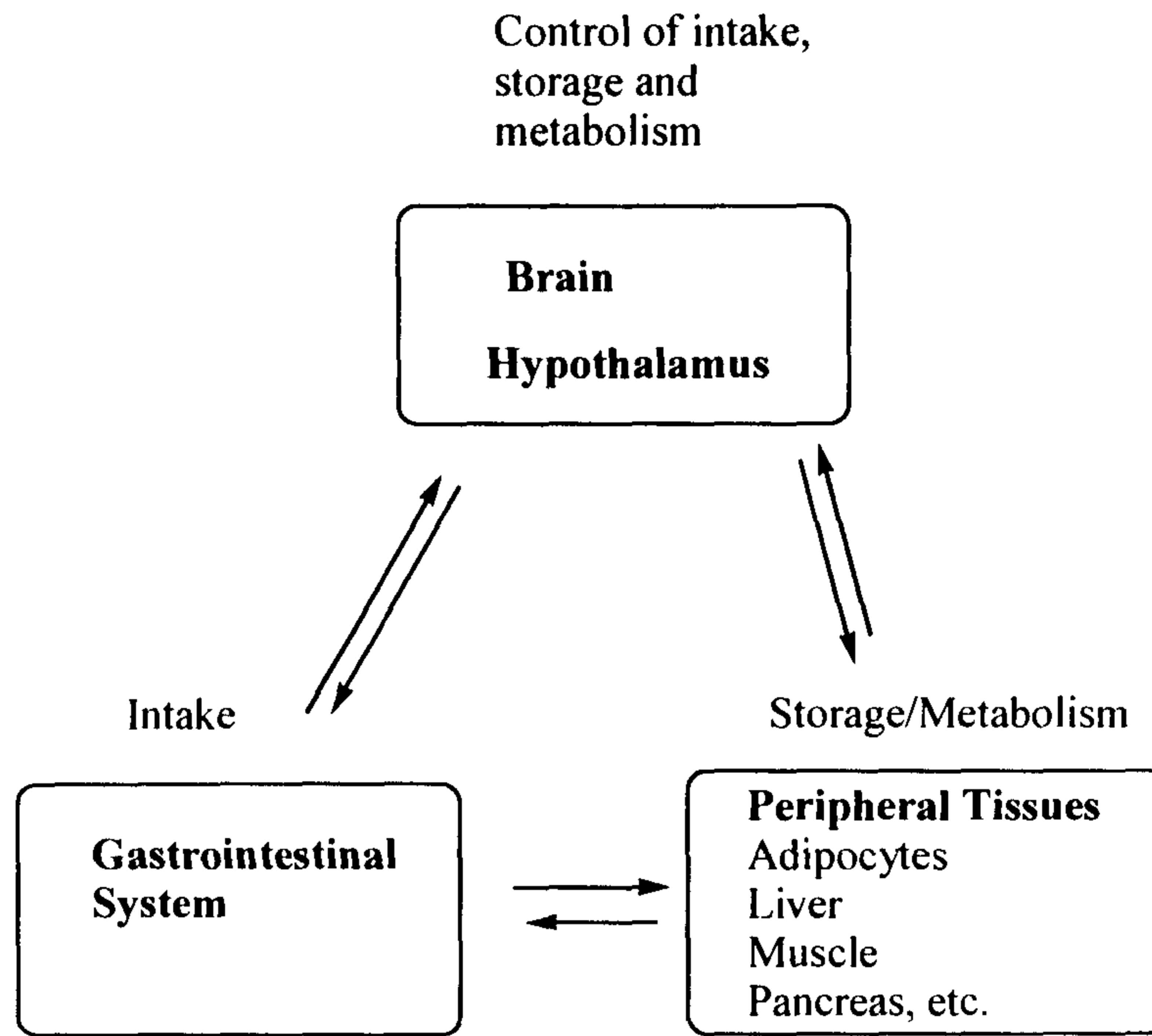


표 4. 음식물의 섭취, 저장 및 대사 조절기구

최근 많은 제약회사들이 β_3 -Adrenoceptor 저해제에^{9,10,11} 많은 개발에 많은 노력을 기울이고 있어 수 개의 화합물이 임상 2상 및 전 임상 단계에 들어가 있다. 신약 탐색을 연구하는 우리의 입장에서는 가장 진보되고 가능성이 있는 β_3 -Adrenergic receptor agonist 분야를 집중적으로 연구할 필요가 있다. 따라서 비만과 당뇨병을 동시에 치료할 수 있는 치료제로서 β_3 -Adrenoceptor agonist와 antagonist에 대한 연구를 통해 2000년대 미래 신의약 시장에 대비하고자 한다. 지금까지 개발중인 대표적 화합물은 다음과 같다 (표 4).

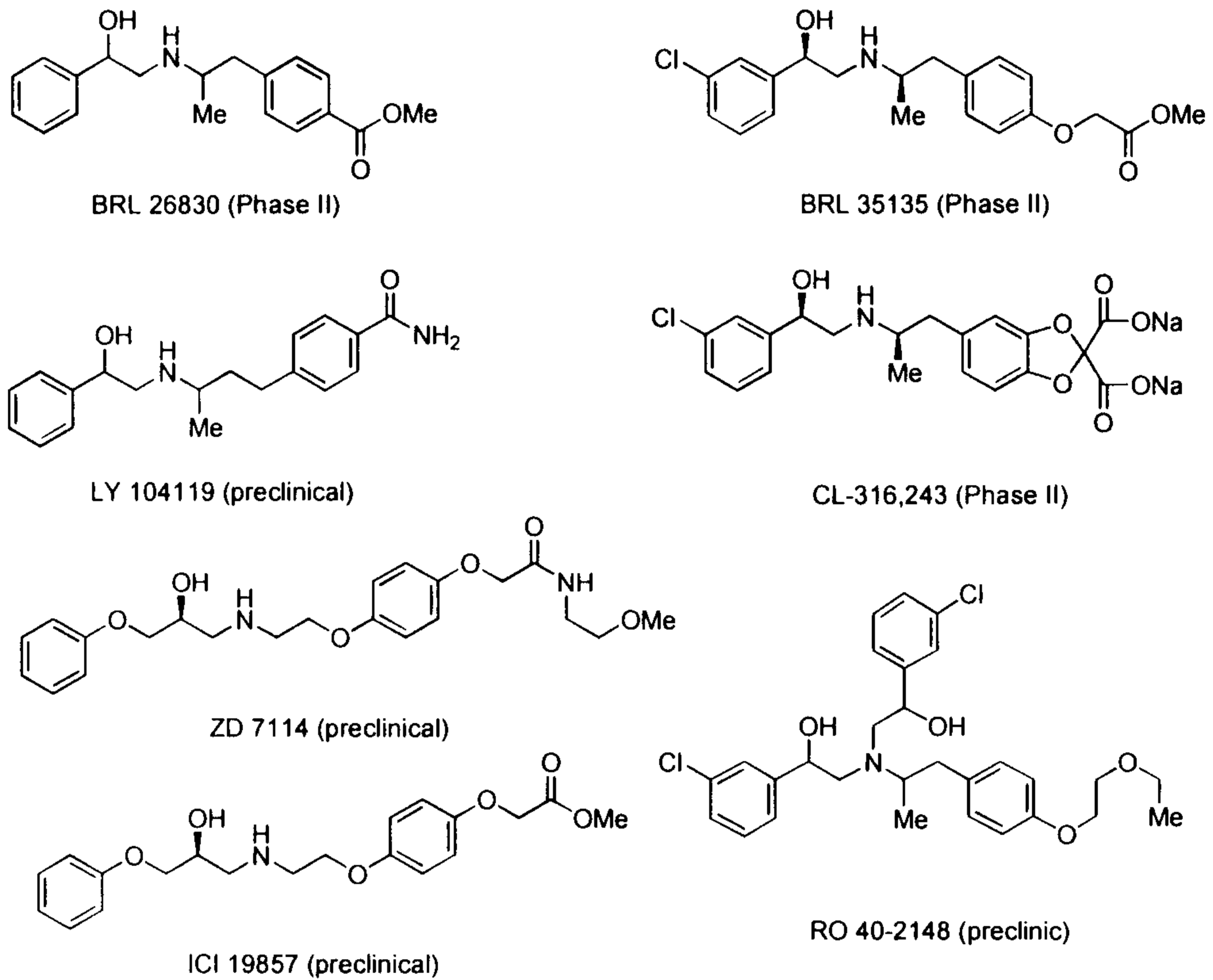


표 4. 개발중인 β_3 -Adrenergic receptor agonist 및 antagonist¹¹

이들 화합물은 지방의 분해를 도와주며 혈당을 감소시킴으로서 인슐린 비의존성 당뇨병 (NIDDM)의 근원인 비만증도 치료할 수 있으므로 장래에 가장 각광을 받을 것으로 예상되는 분야이다.

그 밖에 위에서 언급하지 않은 개발중인 인슐린 비의존성 당뇨병 (NIDDM)의 치료제는 다음과 같다 (표 5).

표 5. 기타 계열 당뇨병치료제

제 제	회 사 명	적 응 증
Orlistat	Roche	Antidiabetic and antiobesity pancreatic lipase inhibitor (Phase III)
ARI-509	Wyeth-Ayerst	Symptomatic antidiabetic aldase reductase inhibitor (Phase II)
Sibutromine	Boots	Antiobesity and antidiabetic (Phase III)
Linoglriride	McNeil	Enhances insuline release (Phase II)

Source : Drugs of Future. 1992-1997

국내에서는 상업과 잠분으로부터 추출한 물질이 탄수화물의 소화
 화에 관여하는 효소인 α -glucohydrolase 억제 작용을 통한 혈당강하
 억제 효과가 있음이 확인되었다 (광동제약, 녹십자). 한편 인슐린 의
 존성 당뇨병 (IDDM)을 치료하기 위하여 한국화학연구소와 동신제약
 은 인슐린 팻취로 인슐린의 전달도를 향상시키는 방법을 개발중이다.
 하지만 합성을 통한 약물치료제의 연구는 진행된 바 없는 것으로 사
 려된다.

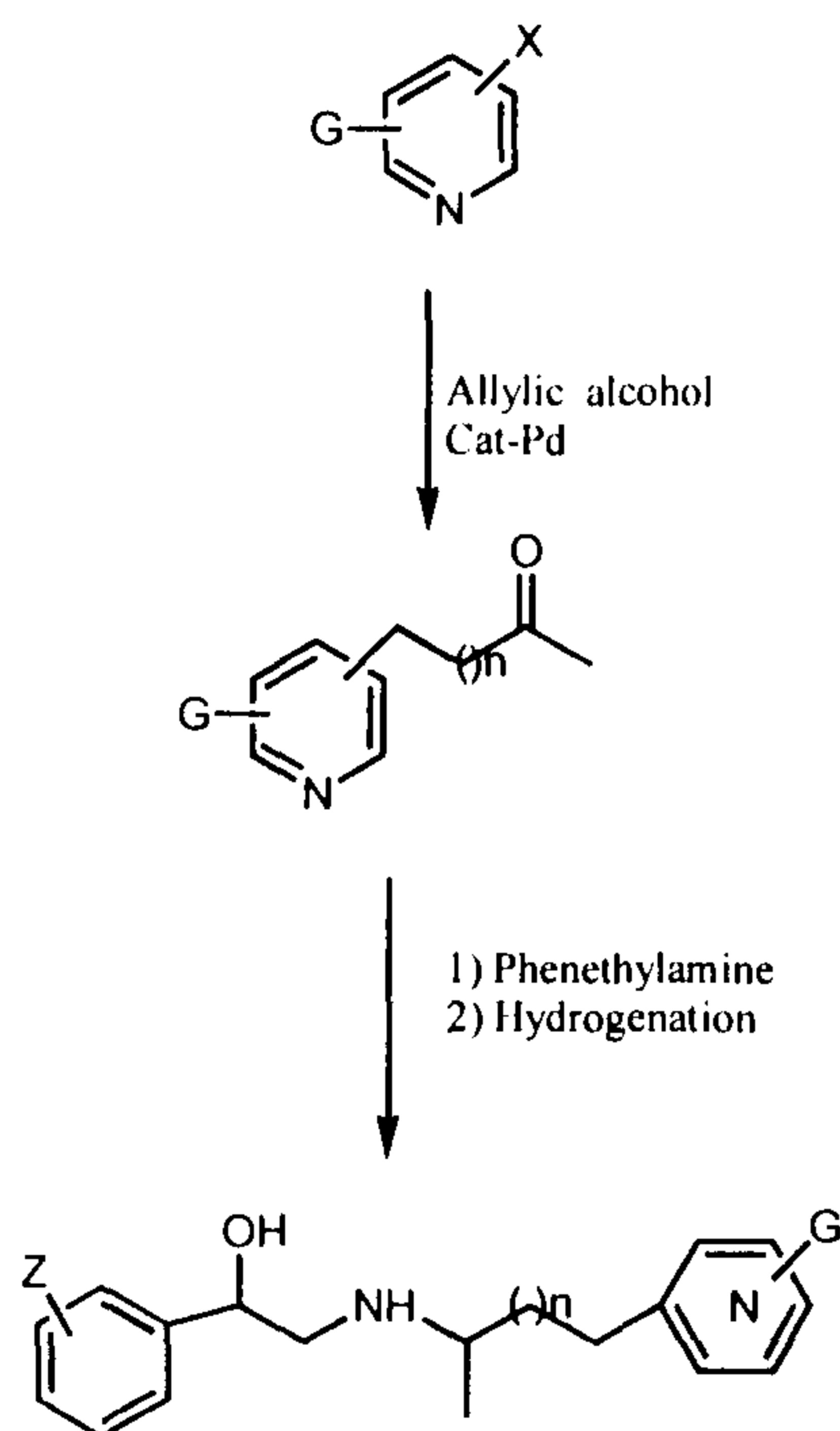
3. 연구수행 내용 및 결과

가. 연구내용

최근 신약연구 동향인 수용체 개념이 당뇨병 및 비만치료제의 연구에도 도입되고 있다. 따라서 본 연구에서는 이미 당뇨병의 연구와 비만치료제의 연구가 β_3 -adrenoceptor에 작용을 나타내는 것으로 알려진 β -aminoalcohol에 헤테로고리를 도입하여 약효를 향상시키고자 하였다. 1차 년도의 연구에서 얻은 결과를 중심으로 다양한 헤테로고리의 도입을 시도하였다.

(1) 피리딘을 포함하는 phenylethanolamine 유도체의 합성

1차년도의 연구에서 피리딘 유도체가 뛰어난 약효를 나타내어 다양한 피리딘 유도체의 합성방법을 연구하였다. 피리딘 유도체의 알킬케톤이나 알데히드 유도체는 지금까지의 알려진 합성방법으로 쉽게 합성할 수 없기 때문에 본 연구에서는 Palladium 촉매를 이용한 Heck 반응을 통하여 필요한 피리딘 유도체의 화합물을 합성하였다. 한편 위에서 합성한 피리딘 유도체와 다양한 여러 가지의 phenylethanolamine 유도체를 비극성 용매에서 축합반응하여 이민을 만든 다음 금속촉매를 이용한 수소화반응을 통하여 β -amino alcohol 유도체들을 얻었다 (Scheme 1).



(2) 다양한 헤테로고리를 포함한 phenylethanolamine 유도체

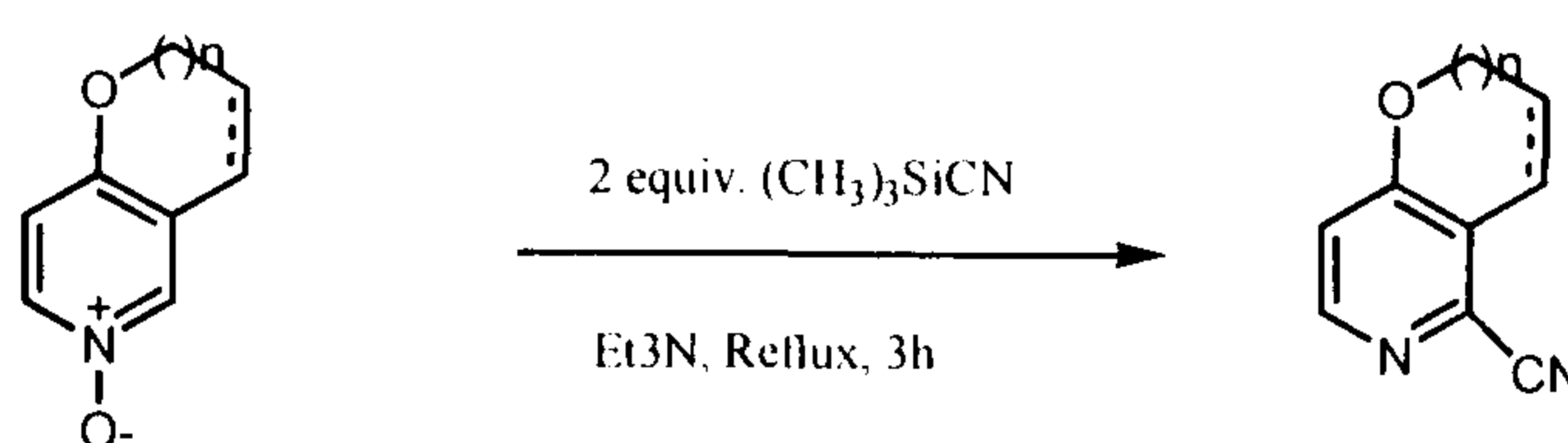
당뇨병 치료제의 대부분은 카르복시기를 가지는 화합물이 좋은 약효를 나타내기 때문에 본 연구에서는 화학적 성질이 유사한 관능기를 이용한 테트라졸 유도체의 알킬케톤이나 알킬알데히드를 본 실험실에서 개발한 palladium 촉매를 이용한 방법으로 합성하였다. 이들 화합물을 이용하여 여러 가지의 phenylethanolamine 유도체를 합성하였다. 다른 한편으로 질소를 포함하는 헤테로고리 화합물이 다양한 기전에서 좋은 생리활성을 나타내기 때문에 본 실험실에서 개발한 합성방법에 의하여 다양한 케톤이나 알데히드유도체를 합성하였다. 이들 화합물을 이용하여 다양한 헤테로고리를 포함하는 phenylethanolamine 유도체를 합성하였다

(3) 광학활성을 가지는 phenylethanolamine 유도체의 합성

최근 의약품의 광학활성을 가지는 화합물들이 chirality에 의하여 약효가 달라지기 때문에 광학활성을 가지는 화합물에 대하여 chiral resolution과 chiral compound의 ring opening 방법 등에 의하여 광학활성을 가지는 화합물을 합성중이다.

(4) 헤테로고리화합물의 선택적인 cyanation

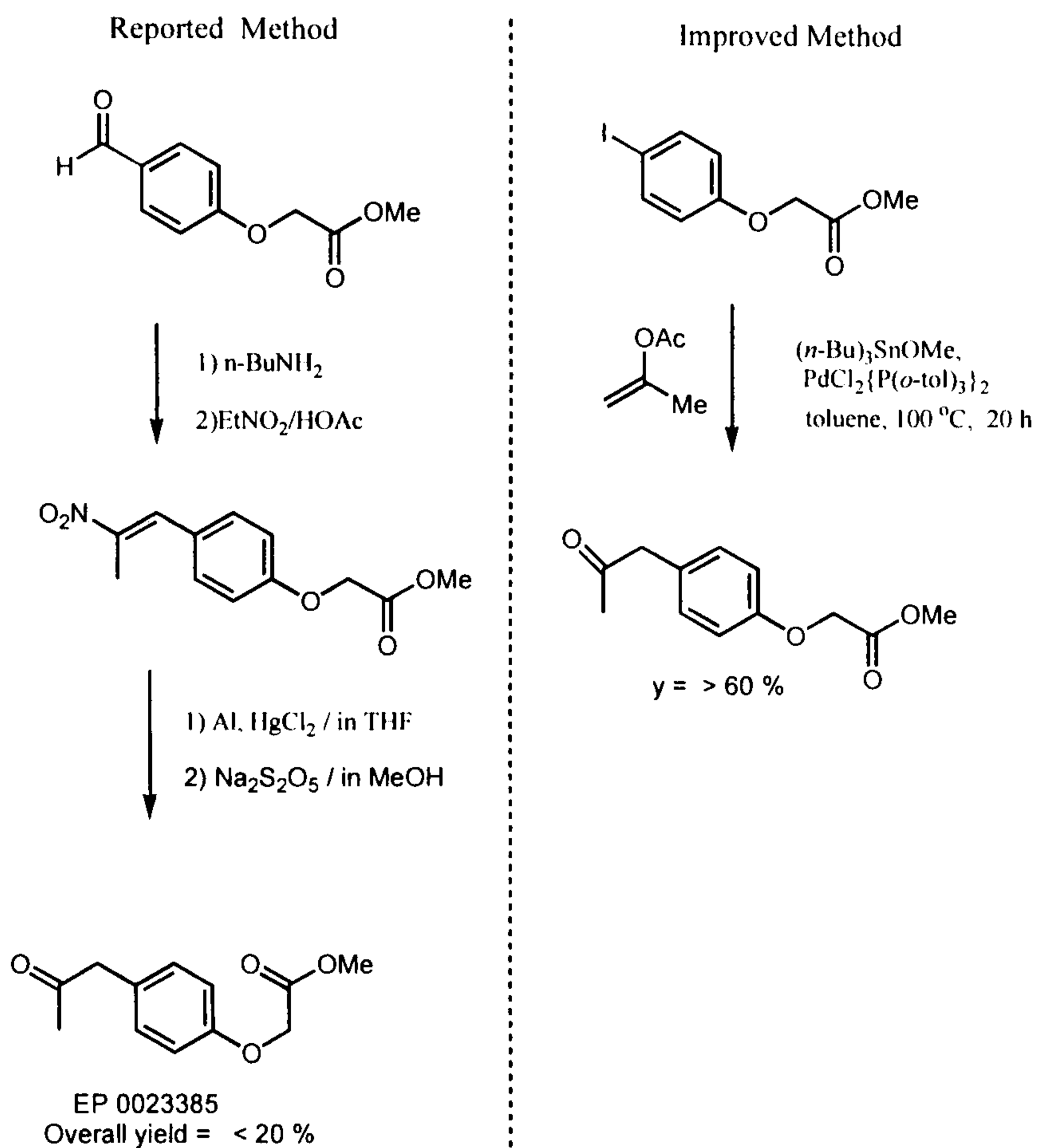
유기합성에서 cyanation 화합물은 카르복실기, 에스테르기, 알코올, 아미드 등의 관능기로 쉽게 변형시킬 수 있기 때문에 유기화학에서 매우 중요하다. 따라서 본 연구에서는 산소를 포함하는 pyridine 유도체에 대하여 선택적인 cyanation 방법을 연구하였으며 이를 의약활성을 가지는 화합물의 중간체 합성에 활용하기 위하여 노력하였다 (Scheme 2).



Scheme 2

(5) 기존 대조화합물의 합성을 위한 합성방법의 개선

본 2차년도 연구기간동안 당뇨병 및 비만치료제에 유용한 β_3 -adrenoceptor의 작용기전을 가지는 당뇨병 치료제를 연구하기 위하여 필요한 대표적인 대조약물 BRL 35135의 합성방법 개선에 노력하였으며 이를 요약하면 다음과 같다 (Scheme 3).



Scheme 3

나. 연구결과

합성한 화합물 중 30여 개 화합물에 대한 생물학적 활성시험결과 (*in vitro*에서 3T3-F442A 지방세포를 사용, 지방세포 분해효과 측정) 기존의 가장 뛰어난 화합물로 알려진 대조약제 BRL 35135와 비교하여 지방분해 효과가 대등하거나 우수한 화합물 수 개를 도출하여 β_3 -adrenoceptor에 대한 선택성을 조사중이다. 한편 1차 년도에 합성된 화합물 중 β_3 -adrenoceptor에 대하여 *in vitro*에서 활성이 우수한 10 개의 화합물을 선정하여 β_1 - 및 β_2 -adrenoceptor에 대한 선택성을 조사하여 선택성이 우수한 화합물을 발견하였다. 따라서 약효 및 선택성검사에서 뛰어난 활성을 가지는 화합물의 최적화 실험을 통하여 선도화합물의 도출에 노력할 예정이다. 다른 한편으로 기존의 방법에 의하여 합성하기 어려웠던 furopyridine유도체의 합성법을 연구하여 cyano group을 선택적으로 도입하는 방법에 대하여 연구하여 논문을 발표하였다. 이들 유도체를 이용하여 다양한 관능기로 변형하여 새로운 당뇨병 치료제의 연구에 이용할 예정이다.

다. 합 성

본 합성에서 가장 중요한 점은 여러 가지의 헤테로고리 화합물을 이용하여 다양한 알데히드나 케톤화합물을 합성하는 것이다. 따라서 본 보고서에서는 일반적인 합성방법을 먼저 기술하고 각각의 화합물에 대하여 구체적으로 기술하였다.

헤테로고리를 포함하는 ketone이나 aldehyde의 일반적 합성

Heteroaromatic halide (iodide 또는 bromide, 10 mmol), LiCl (10 mmol), 5 mol % palladium acetate, KOAc (20 mmol)와 1-buten-3-ol 또는 allyl alcohol (30 mmol)을 pressure bottle에 넣고 DMF (15 ml) 용매에서 100 °C, 5-6 시간 반응시키고 포화 암모늄 클로라이드 수용액을 사용하여 DMF를 완전히 제거하고 column chromatography를 이용하여 헤테로고리에 3개의 탄소가 연결된 aldehyde나 ketone을 약 60 %의 수율로 얻을 수 있다.

5-Carbomethoxy-3-pyrididiny-3-propanal

Yield = 60 %; yellow oil; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 9.60 (s, 1H, CHO), 9.05 (s, 1H, ArH), 8.60 (s, 1H, ArH), 8.10 (s, 1H, ArH), 3.90 (s, 1H, OCH₃), 3.10-2.80 (m, 4H, CH₂); Mass *m/e* (%) 42 (33.9), 51 (73), 77 (100), 103 (24), 120 (43), 132 (45), 161 (91), 193 (27).

5-Carbomethoxy-3-pyridinyl-4-butan-2-one

Yield = 58 %; yellow oil; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 9.05 (s, 1H, ArH), 8.60 (s, 1H, ArH), 8.10 (s, 1H, ArH), 3.95 (s, 1H, OCH_3), 3.00-2.75 (m, 4H, CH_2), 2.15 (s, 1H, CH_3).

5-Carbomethoxy-3-pyridinylpropane-2-one

수율 = 25 %, yellow semi-solid; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 9.15 (s, 1H, ArH), 8.60 (s, 1H, ArH), 4.00 (s, 3H, OCH_3), 3.85 (s, 2H, CH_2), 2.25 (s, 1H, CH_3); Mass m/e (%) 43 (80), 63 (22), 92 (18), 160 (100), 162 (13), 193 (5.0).

4-(2-Fluoro-3-pyridinyl)butan-3-one

수율 = 60 %; oil; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.10 (d, 1H, $J = 4.8$ Hz, ArH), 7.65 (m, 1H, ArH), 7.17 (m, 1H, ArH), 2.90 (m, 4H, CH_2), 2.25 (s, 3H, CH_3).

4-(2-Methoxypyridin-3-yl)butan-2-one

4-(2-Fluoropyridinyl)butan-2-one (0.5 g, 3 mmol)과 99 % sodium methoxide (0.39 g, 7.2 mmol)을 methanol (10 ml)에 녹이고 pressure bottle에서 160 $^\circ\text{C}$ 로 4 시간 동안 가열하였다. 반응혼합물을 상온으로 식히고 ethyl acetate로 추출, column chromatography로 분리하여 원하는 화합물 (150 mg)을 얻었다: ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.02 (dd, 1H, $J = 5.0, 1.9$ Hz), 7.41 (dd, 1H, $J = 7.0,$

1.9 Hz), 6.80 (dd, 1H, $J = 7.1, 5.0$ Hz), 2.15 (s, 3H), 2.70–2.88 (m, 4H).

2-(3-Iodo-2-oxypyridine)ethylamine

Ethanolamine (2 g, 32 mmol)을 40 ml의 THF에 녹이고 Na (750 mg, 32 mmol)을 가하여 가열하면 Na가 녹는다. 이때 2-fluoro-3-iodopyridine (2.24 g, 10 mmol)을 가하여 12시간동안 환류시키고 반응물을 제거한 다음 column chromatography로 분리하여 2-(3-Iodo-2-oxypyridine)ethylamine 1.3 g (5 mmol, 50 %)을 얻었다: ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.10 (m, 2H, ArH), 6.65 (m, 1H, ArH), 4.35 (t, $J = 5.2$ Hz, OCH_2), 3.15 (t, $J = 5.2$ Hz, CH_2N), 2.15 (brs, 2H, NH_2).

3-Propanal-5-methylcarbonylpyridine

Yield = 60 %; yellow oil; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) 9.60 (s, 1H, CHO), 9.05 (s, 1H, Ar), 8.60 (s, 1H, ArH), 8.10 (s, 1H, ArH), 3.90 (s, 1H, OCH_3), 3.10–2.80 (m, 4H, CH_2); Mass m/e (%) 42 (33.9), 51 (73), 77 (100), 103 (24), 120 (43), 132 (45), 161 (91), 193 (27).

3-(Butan-2-one)-5-carbomethoxypyridine

Yield = 58 %; yellow oil; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) 9.05 (s, 1H, ArH), 9.60 (s, 1H, ArH), 8.10 (s, 1H, ArH), 3.95 (s, 1H, OCH_3), 3.00–2.75 (m, 4H, CH_2), 2.15 (s, 1H, CH_3).

3-(Propane-2-one)-5-carbomethoxypyridine

Yield = 25 %, yellow semi-solid; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) 9.15 (s, 1H, ArH), 8.60 (s, 1H, ArH), 4.00 (s, 3H, OCH_3), 3.85 (s, 2H, CH_2), 2.25 (s, 1H, CH_3); 43 (80), 63 (22), 92 (18), 160 (100), 162 (13), 193 (5.0).

두 개 이상의 질소를 포함하는 헤테로고리화합물의 케톤 및 알데히드 유도체 합성.

두 개 이상의 질소를 포함하는 화합물은 palladium를 이용하면 coordination에 의하여 반응이 진행되지 않기 때문에 먼저 벤질이나 다른 보호기로 보호시킨 다음 위의 일반적인 헤테로고리의 관능기 변환에 의하여 원하는 화합물을 얻을 수 있다. 한편 벤질보호기는 PdCl_2 의 이용한 hydrogenolysis를 통하여 원하는 화합물을 얻을 수 있었다.

4-[4-(2-Benzyl-2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl]-2-butanone

Yield = 60 %; yellow oil; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.06 (d, 2H, ArH, $J = 6.4$ Hz), 7.38 (m, 5H, ArH), 7.30 (d, 2H, ArH, $J = 6.4$ Hz), 5.80 (s, 2H, CH_2Ph), 2.90 (m, 4H, CH_2), 2.20 (s, 3H, CH_3). Mass m/e (%) 63 (14.5), 77 (25.0), 89 (12.0), 103 (12.0), 131 (100), 145 (11.0), 173 (20.5), 216 (12.0), 306 (5.0).

4-[4-(2H-1,2,3,4-Tetrazol-5-yl)phenyl]-2-butanone

Yield = 75 %; Semi-solid; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 7.93 (d, 2H, ArH, *J* = 6.4 Hz), 7.30 (d, 2H, ArH, *J* = 6.4 Hz), 4.90 (s, 1H, NH) 2.90 (m, 4H, CH₂), 2.20 (s, 3H, CH₃). Mass *m/e* (%) 63 (14.5), 77 (25.0), 89 (12.0), 103 (12.0), 131 (100), 145 (11.0), 173 (20.5), 216 (12.0),

Methyl 2-{5-[4-(3-oxobutyl)phenyl]-2H-1,2,3,4-tetrazol-2-yl}acetate

Yield = 63 %; yellow oil; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 8.06 (d, 2H, ArH, *J* = 6.4 Hz), 7.30 (d, 2H, ArH, *J* = 6.4 Hz), 5.54 (s, 2H, CH₂), 3.90 (s, 3H, OCH₃), 2.90 (m, 4H, CH₂), 2.20 (s, 3H, CH₃). Mass *m/e* (%) 43 (100), 74 (71.0), 173 (18.2), 201 (35.4), 288 (1.0).

4-[4-(1-Benzyl-1H-3-pyrazolyl)phenyl]-2-butanone

Yield = 65 %; yellow oil; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 7.40 (m, 5H, ArH), 5.30 (s, 2H, ArH), 2.70 (m, 4H, CH₂), 2.10 (s, 3H, CH₃).

4-[4-(1H-3-Pyrazolyl)phenyl]-2-butanone

Yield = 65 %; yellow oil; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 9.80 (brs, 1H, NH), 7.70 (s, 1H, ArH), 7.40 (s, 1H, ArH), 2.70 (m, 4H, CH₂), 2.10 (s, 3H, CH₃).

Methyl 4-[3-[2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethylamino]-butyl]-2-furoate

벤젠에 2-amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (190 mg, 1.1 mmol), methyl 4-(3-oxobutyl)-2-furoate (239 mg, 1.2 mmol), molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 18시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 10 mol % 넣고 70 psi에서 6시간 정도 반응시킨 후 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH = 4:4:1)로 원하는 화합물 (수율 : 198 mg, 56.4 %)를 깨끗하게 분리할 수 있다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.10 (d, J = 6.3 Hz, 3H), 1.77 (m, 2H), 2.26 (brs, 2H), 2.51-3.09 (m, 5H), 3.87 (s, 3H), 4.62 (m, 1H), 6.14 (m, 1H), 7.09-7.37 (m, 5H); Mass m/e (%) 352 (1.9), 351 (M⁺, 0.4), 320 (1.6), 210 (100).

2-{3-[4-(2-Benzyl-2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl]-1-methylpropylamino}-1-(3-trifluoromethylphenyl)-1-ethanol

2-Amino-1-(3-trifluoromethylphenyl)-1-ethanol (600 mg, 3 mmol), 4-(4-(2-benzyl-2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-butanone (500 mg, 1.6 mmol), molecular sieve 3 g을 벤젠에 넣고 21시간정도 환류시킨 다음 PtO₂ (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 15시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:3→1:1)로 분리하여 원하는 화합물을 68 %의 수율로 얻을 수 있었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.13 (d, 3H, J = 6.3 Hz), 1.72 (m,

2H), 2.4-3.0 (m, 5H), 4.67 (m, 1H), 5.79 (s, 2H), 7.26-7.64 (m, 11H), 8.04 (d, 2H, $J = 7.8$ Hz); Mass m/e (%) 496 (M+1, 2.1), 320 (46.7), 91 (42.8), 58 (100).

2-{3-[4-(2-Benzyl-2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl]-1-methylpropylamino}-1-phenyl-1-ethanol

벤젠에 2-amino-1-phenyl-1-ethanol (336 mg, 2.4 mmol)과 4-(4-(2-benzyl-2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-butanone (500 mg, 1.63 mmol), molecular sieve (3 g)을 가하여 24시간동안 가열 환류시켰다. 반응 혼합물은 완전히 농축시킨 다음 잔여물을 에탄올에 녹이고 PtO₂ (50 mg)와 수소 (70 psi)하에서 20시간 정도 반응시켜 원하는 목적화합물을 컬럼크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH= 4:4:1)로 분리하여 33 %의 수율로 원하는 화합물을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.12 (d, $J = 6.3$ Hz, 3H), 1.67 (m, 2H), 2.04 (brs, 2H), 2.57-2.88 (m, 5H), 4.64 (m, 1H), 5.79 (s, 2H), 7.26-7.42 (m, 12H), 8.02-8.06 (m, 2H); Mass m/e (%) 428 (M+1), 320 (26), 91 (34), 58 (100).

2-{3-[4-(2-Benzyl-2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl]-1-methylpropylamino}-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol

벤젠에 2-amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (504 mg, 1.8 eq.)과 4-(4-(2-benzyl-2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl)-2-butanone (500 mg, 1.63 mmol), molecular sieves (3 g)을 가하여 27시간동안 가열 환류시킨 후 반응 혼합물을 완전히 농축시킨 다음 잔여물을 에탄올

에 녹이고 PtO₂ (50 mg)와 수소 (70 psi)하에서 20시간 정도 반응시켜 원하는 목적화합물을 관컬럼크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH=4:4:1)로 분리하여 30 %의 수율로 원하는 화합물을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.21 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H), 1.71 (brs, 2H), 2.40-3.00 (m, 5H), 4.60 (m, 1H), 5.79 (s, 2H), 7.25-7.39 (m, 11H), 8.02-8.06 (m, 2H); Mass *m/e* (%) 320 (18), 178 (9), 91 (41), 58 (100).

2-{1-Methyl-3-[4-(2*H*-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl]propyl-amino}-1-phenyl-1-ethanol

2-{3-[4-(2-Benzyl-2*H*-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl]-1-methylpropyl amino}-1-phenyl-1-ethanol 의 벤질기를 PdCl₂ (30 mg)를 사용하여 수소 (70 psi)와 함께 에탄올에 넣어 실온에서 8시간 정도 반응시키면 원하는 화합물을 63.3 %의 수율로 합성하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.29 (d, *J* = 6.7 Hz, 3H), 1.84 (brs, 1H), 2.02 (brs, 1H), 2.50-2.90 (m, 4H), 3.10-3.24 (m, 4H), 7.13-7.30 (m, 7H), 7.83-7.87 (m, 2H); Mass *m/e* (%) 230 (34), 131 (42), 91 (100)

2-[3-(1-Benzyl-1*H*-4-pyrazolyl)-1-methylpropylamino]-1-(3-trifluoromethylphenyl)-1-ethanol

2-Amino-1-(3-trifluoromethylphenyl)-1-ethanol (500 mg, 2.4 mmol), 4-(1-benzyl-1*H*-4-pyrazolyl)-2-butanone (410 mg, 1.79 mmol), molecular sieve (3 g)을 가하여 22시간동안 가열 환류시킨

후 반응 혼합물을 완전히 농축시킨 다음 잔여물을 에탄올에 녹이고 PtO₂ (50 mg)와 수소 (70 psi)하에서 20시간 정도 반응시켜 원하는 목적화합물을 관컬럼크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH= 4:4:1)로 분리하여 45 %의 수율로 원하는 화합물을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.14 (m, 3H), 1.69 (m, 2H), 2.76 (m, 3H), 4.80 (m, 1H), 5.23 (s, 2H), 7.17–7.64 (m, 11H); Mass *m/e* (%) 418 (M+1, 21.4) 242 (38.3), 185 (32.5), 91 (63.9), 58 (100).

2-{1-Methyl-3-[4-(2H-1,2,3,4-tetrazol-5-yl)phenyl]propyl-amino}-1-(3-trifluoromethylphenyl)-1-ethanol

2-[3-(1-Benzyl-1H-4-pyrazolyl)-1-methylpropylamino]-1-(3-trifluoromethylphenyl)-1-ethanol을 PdCl₂ (30 mg)를 사용하여 수소 (70 psi)와 함께 에탄올에 넣어 실온에서 8시간 정도 반응시키면 원하는 화합물이 합성된다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.43 (m, 3H), 1.98 (m, 2H), 2.83 (m, 2H), 3.21 (m, 3H), 5.04 (m, 1H), 7.43 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz), 7.58–7.80 (m, 4H), 7.96 (d, 2H, *J* = 8.2 Hz); Mass *m/e* (%) 375 (3.3), 230 (25.3), 131 (26.7), 58 (100).

Methyl 2-[5-(4-{3-[2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl-amino]butyl}phenyl)-2H-1,2,3,4-tetrazol-2-yl]acetate

2-Amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (180 mg, 1 mmol)과 methyl 2-(5-(4-(3-oxobutyl)phenyl)-1H-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)acetate (307 mg, 1.04 mmol), molecular sieve 3 g을 벤젠용매 중에서 23시간 환

류시킨 다음 PtO₂ 40 mg을 첨가한 뒤 메탄올용매 중에서 반응시키어 원하는 화합물을 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)을 이용하여 분리하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.15 (d, 3H, *J* = 5.1 Hz), 1.97 (m, 4H), 2.77 (m, 5H), 3.83 (s, 3H), 5.46 (s, 2H), 7.24-7.38 (m, 6H), 8.07 (d, 2H, *J* = 7.1 Hz); Mass *m/e* (%) 302 (28.4), 158 (22.6), 116 (66.9), 58 (100).

Methyl 2-[5-(4-{3-[2-hydroxy-2-(3-trifluoromethylphenyl)-ethylamino]butyl}phenyl)-2*H*-1,2,3,4-tetrazol-2-yl]acetate

2-Amino-1-(3-trifluoromethylphenyl)-1-ethanol (205 mg, 1 mmol), methyl 2-(5-(4-(3-oxobutyl)phenyl)-1*H*-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)-acetate (305 mg, 105 mmol), molecular sieve 3 g을 벤젠용매에 넣고 21시간정도 환류시킨 다음 PtO₂ (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 4시간 정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:3→1:1)로 분리하여 원하는 화합물을 얻을 수 있었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.14 (m, 3H), 1.69 (m, 2H), 1.80 (m, 2H), 2.62 (m, 5H), 3.82 (m, 3H), 4.72 (m, 1H), 5.45 (m, 3H), 7.26-7.64 (m, 6H), 8.00-8.13 (m, 2H); Mass *m/e* (%) 478 (M+1, 1.7), 444 (2.7), 302 (73.6), 214 (50.2), 116 (78.9), 58 (100).

Methyl 2-[5-(4-{3-[2-(5-chloro-2-thienyl)-2-hydroxyethyl-amino]butyl}phenyl)-2*H*-1,2,3,4-tetrazol-2-yl]acetate

Methyl 2-[5-(4-{3-[2-hydroxy-2-(3-trifluoromethylphenyl)ethyl-amino]butyl}phenyl)-2*H*-1,2,3,4-tetrazol-2-yl]acetate의 합성법과 같으며, 수소축매하에서의 반응시 메탄올 용매를 사용하여 반응시켜야 한다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.14 (m, 3H), 1.77 (m, 2H), 2.48 (brs, 2H), 2.85 (m, 5H), 3.83 (s, 3H), 4.80 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 6.75 (m, 2H), 7.28 (m, 2H), 8.07 (m, 2H).

Methyl 2-[5-{4-[3-(2-hydroxy-2-phenylethylamino)butyl]-phenyl}-2*H*-1,2,3,4-tetrazol-2-yl]acetate

2-Amino-1-phenyl-1-ethanol (140 mg, 1.02 mmol), methyl 2-(5-(4-(3-oxobutyl)phenyl)-1*H*-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)acetate (305 mg, 1.05 mmol), molecular sieve 2 g을 벤젠용매에 넣고 21시간정도 환류시킨 다음 플라티늄옥사이드 (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 12시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)로 분리하여 원하는 화합물을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.16 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H), 1.77 (m, 2H), 2.26 (brs, 2H), 2.57-3.07 (m, 5H), 3.83 (s, 3H), 4.71 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 7.26-7.37 (m, 7H), 8.07 (d, *J* = 8.3 Hz, 2H); Mass *m/e* (%) 302 (2.2), 288 (1.3), 58 (100).

Methyl 2-(4-[3-(2-hydroxy-2-phenylethylamino)butyl]-1H-1-pyrazolyl)acetate

2-Amino-1-phenyl-1-ethanol (189 mg, 1.09 mmol), methyl 2-(4-(3-oxobutyl)-1H-1-pyrazolyl)acetate (305 mg, 1.15 mmol), molecular sieve 2 g을 벤젠용매에 넣고 20시간정도 환류시킨 다음 PtO₂ (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 5시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)로 분리하여 원하는 화합물을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.15 (m, 3H), 1.81 (m, 2H), 2.49-3.07 (m, 5H), 3.22 (brs, 2H), 3.75 (s, 3H), 4.85 (s, 2H), 7.22-7.4 (m, 7H).

Methyl 2-(4-{3-[2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethylamino]-butyl}-1H-1-pyrazolyl)acetate

2-Amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (230 mg, 1.05 mmol), methyl 2-(4-(3-oxobutyl)-1H-1-pyrazolyl)acetate (305 mg, 1.45 mmol), molecular sieve 2 g을 벤젠용매에 넣고 20시간정도 환류시킨 다음 PtO₂ (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 4시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)로 분리하여 원하는 화합물을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.23 (m, 3H), 1.74 (m, 2H), 2.15-2.96 (m, 5H), 3.77 (s, 3H), 4.87 (m, 2H), 7.24-7.46 (m, 6H)

Methyl 4-[3-(2-hydroxy-2-phenylethylamino)butyl]-2-furoate

2-Amino-1-phenyl-1-ethanol (150 mg, 1.1 mmol), 4-(5-acetyl-3-furyl)-2-butanone (236 mg, 1.2 mmol), molecular sieve 2 g을 벤젠 용매에 넣고 20시간정도 환류시킨 다음 PtO₂ (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 5시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)로 분리하여 62 %로 원하는 화합물을 얻을 수 있었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 2.09 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H), 1.76 (m, 2H), 2.38 (brs, 2H), 2.49-3.07 (m, 5H), 3.86 (s, 3H), 4.63 (m, 1H), 6.13 (m, 1H), 7.09 (d, *J* = 3.5 Hz, 1H), 7.26-7.36 (m, 5H); Mass *m/e* (%) 317 (M⁺, 0.1), 286 (1.1), 210 (73.5), 84 (100).

Methyl 2-[5-(4-{3-[2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl]-amino]butyl}phenyl)-1*H*-1,2,3,4-tetrazol-1-yl]acetate

2-Amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (240 mg, 1.4 mmol), methyl 2-(5-(4-(3-oxobutyl)phenyl)-1*H*-1,2,3,4-tetrazol-1-yl)acetate (410 mg, 1.4 mmol), molecular sieve 2 g을 벤젠 용매에 넣고 20시간정도 환류시킨 다음 PtO₂ (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 5시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)로 원하는 화합물을 분리하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.15 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H), 1.67-2.17 (m, 4H), 2.40-3.09 (m, 5H), 3.83 (s, 3H), 4.63 (m, 1H), 5.47 (s, 2H), 7.25-7.38 (m, 6H), 8.07 (d, *J* = 8.1 Hz, 2H); Mass *m/e* (%) 302 (28.4), 158 (22.6), 116 (66.9), 58 (100).

2-[3-(1-Benzyl-1*H*-4-pyrazol)-1-methylpropylamino]-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol

2-Amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (180 mg, 1.05 mmol), 4-(1-benzyl-1*H*-4-pyrazolyl)-2-butanone (297 mg, 1.3 mmol), molecular sieve 2 g을 벤젠용매에 넣고 20시간정도 환류시킨 다음 PTO₂ (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 7시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)로 분리하여 원하는 화합물 (238 mg, 59.1 %)을 분리하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.09 (dd, *J* = 1.4, 6.3 Hz, 3H), 1.64 (m, 2H), 2.39-3.03 (m, 7H), 4.62 (m, 1H), 5.26 (s, 2H), 7.15-7.36 (m, 11H).

Methyl 4-{3-[2-hydroxy-2-(3-trifluoromethylphenyl)ethyl-amino]butyl}-2-furoate

2-Amino-1-(3-trifluoromethylphenyl)-1-ethanol (190 mg, 0.93 mmol), methyl 4-(3-oxobutyl)-2-furoate (200 mg, 1.02 mmol), molecular sieve 2 g을 벤젠용매에 넣고 20시간정도 환류시킨 다음 PtO₂ (50 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 5시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)로 분리하여 원하는 화합물을 분리하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.12 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H), 1.80 (m, 2H), 2.04 (brs, 2H), 2.53-3.10 (m, 5H), 3.87 (s, 3H), 4.69 (m, 1H), 6.14 (m, 1H), 7.10 (d, *J* = 3.2 Hz, 1H), 7.45-7.65 (m, 4H); Mass *m/e* (%) 386 (M+1, 0.9), 354 (0.8), 210 (70.4), 139 (59.6), 58 (100).

Methyl 4-{3-[2-(5-chloro-2-thienyl)-2-hydroxyethylamino]-butyl}-2-furoate

2-Amino-1-(5-chloro-2-thienyl)-1-ethanol (180 mg, 1 mmol), methyl 4-(3-oxobutyl)-2-furoate (220 mg, 1.1 mmol), molecular sieve 2 g을 벤젠용매에 넣고 20시간정도 환류시킨 다음 PtO₂ (20 mg)를 넣고 70 psi의 수소하에서 7시간정도 반응시킨다. 반응혼합물을 농축한 후에 컬럼크로마토그래피 (에틸 아세테이트:헥산=1:1)로 분리하여 원하는 화합물을 분리하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.11 (d, *J* = 6.3 Hz, 3H), 1.76 (m, 2H), 2.36 (brs, 2H), 2.62-3.09 (m, 5H), 3.87 (s, 3H), 4.78 (m, 1H), 6.13 (m, 1H), 6.70-6.77 (m, 2H), 7.09 (d, *J* = 3.4 Hz, 1H); Mass *m/e* (%) 357 (M⁺, 0.2), 326 (0.9), 210 (100).

4-{3-[2-(3-Chlorophenyl)-2-hydroxyethylamino]butyl}-2-pyridinecarbonitrile

4-(3-Oxobutyl)-2-pyridinecarbonitrile (100 mg, 0.57 mmol), 2-amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (90 mg, 0.52 mmol), molecular sieve 1.5g을 벤젠에 넣고 20시간 정도 환류시킨 다음 methanol용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 사용하여 70 psi 수소하에서 반응을 시킨 후 이를 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH=4:4:1)를 이용하여 깨끗하게 분리하여 원하는 화합물을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.14 (d, *J* = 6.1 Hz, 3H), 1.72 (m, 2H), 2.48-3.11 (m, 7H), 4.61 (m, 1H), 7.26-7.37 (m, 5H), 7.53 (s, 1H), 8.57 (d, *J* = 4.7 Hz, 1H); Mass *m/e* (%) 330 (M+1, 0.7), 188 (100).

1-(3-Chlorophenyl)-2-[1-methyl-3-(4-pyridyl)propylamino]-1-ethanol

벤젠에 2-amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (265 mg, 1.54 mmol), 4-(4-pyridyl)-2-butanone (220 mg, 1.47 mmol), molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 20시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 넣고 70 psi에서 4시간 반응시킨 후 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH = 4:4:1)로 원하는 화합물 (265 mg, 86.9 %)로 분리하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.09 (d, J = 4.9 Hz, 3H), 1.70 (m, 2H), 2.04-3.04 (m, 7H), 4.62 (m, 1H), 7.09-7.37 (m, 6H), 8.47 (dd, J = 1.4, 4.3 Hz, 2H); Mass m/e (%) 305 (M+1, 0.6), 163 (100).

2-[1-Methyl-3-(4-pyridyl)amino]-1-phenyl-1-ethanol

벤젠에 2-amino-1-phenyl-1-ethanol (212 mg, 1.5 mmol), 4-(4-pyridyl)-2-butanone (220 mg, 1.47mmol), molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 20시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 넣고 70 psi에서 4시간 정도 반응시킨 후 관 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH = 4:4:1)로 원하는 화합물 (수율 : 252 mg, 63 %)로 분리하였다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.12 (d, J = 6.3 Hz, 3H), 1.71 (m, 2H), 2.41 (brs, 2H), 2.53-3.03 (m, 5H), 4.66 (m, 1H), 7.08-7.37 (m, 7H), 8.46 (dd, J = 1.6, 4.7 Hz, 2H); Mass m/e (%) 271 (M+1, 0.9), 175 (1.6), 163 (97.3), 134 (100).

Methyl 4-[3-(2-hydroxy-2-phenylethylamino)propyl]-2-pyridinecarboxylate

벤젠에 2-amino-1-phenyl-1-ethanol (107 mg, 0.77mmol), methyl 4-(2-formylethyl)-2-pyridinecarboxylate (144 mg, 0.74 mmol), molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 20시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 넣고 70 psi에서 4시간 정도 반응시킨 후 관 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH = 4:4:1)로 원하는 화합물 (154 mg, 57 %)을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.87 (m, 2H), 2.37 (brs, 2H), 2.67-2.95 (m, 6H), 4.00 (s, 3H), 4.73 (m, 1H), 7.26-7.36 (m, 6H), 7.98 (s, 1H), 8.62 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H); Mass *m/e* (%) 315 (M+1, 0.5), 207 (100).

Methyl 4-{3-[2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethylamino]propyl}-2-pyridinecarboxylate

벤젠에 2-amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (130 mg, 0.75 mmol) 과 methyl-4-(2-formyl -ethyl)-2-pyridinecarboxylate (140 mg, 0.72 mmol), molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 20시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 넣고 70 psi에서 3시간 정도 반응시킨 후 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH = 4:4:1)로 원하는 화합물 (140 mg, 55.6 %) 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.90 (m, 2H), 2.17 (brs, 2H), 2.65-2.96 (m, 6H), 4.02 (s, 3H), 4.70 (m, 1H), 7.25-7.38 (m, 5H), 7.99 (s, 1H), 8.63 (d, *J* = 4.8 Hz, 1H); Mass *m/e* (%) 349 (M+1, 6.9), 207 (100).

6-Chloro-4-[3-(2-hydroxy-2-phenylethylamino)butyl]-2-pyridinecarbonitrile

벤젠에 2-amino-1-phenyl-1-ethanol (73 mg, 0.5mmol), 6-chloro-4-(3-oxobutyl)-2-pyridinecarbonitrile (110mg, 0.5mmol) molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 19시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 넣고 70 psi에서 5시간 정도 반응시킨 후 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH=4:4:1)로 원하는 화합물 (30 mg, 17 %)을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.26 (m, 3H), 1.79 (m, 2H), 2.74-2.95 (m, 5H), 3.89 (s, 3H), 4.81 (m, 1H), 7.14-7.36 (m, 6H), 7.58 (d, J = 7.7 Hz, 1H); Mass m/e (%) 294 (1.9), 186 (100).

Methyl 5-{3-[(2S)-2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethyl-amino]butyl}nicotinate

벤젠에 chiral한 2-amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (194 mg, 1.13 mmol)과 methyl 5-(3-oxobutyl)nicotinate (260 mg, 1.25 mmol), molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 19시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 넣고 70 psi에서 4시간 반응시킨 후 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH = 4:4:1)로 원하는 화합물 (310 mg, 75.6 %)를 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.15 (d, J = 6.3 Hz, 3H), 1.73 (m, 2H), 2.25 (brs, 2H), 2.50-3.09 (m, 5H), 3.95 (s, 3H), 4.64 (m, 1H), 7.22-7.26 (m, 3H), 7.38 (s, 1H), 8.13 (dd, J = 2.0, 4.0 Hz, 1H), 8.60 (dd, J = 2.0, 3.9 Hz, 1H), 9.05 (d, J = 2.0 Hz, 1H); Mass m/e (%) 362 (M', 4.9), 330 (1.6), 221 (100).

2-[3-(2-Chloro-3-pyridyl)-1-methylpropylamino]-1-phenyl-1-ethanol

벤젠에 2-amino-1-phenyl-1-ethanol (140 mg, 1.01 mmol), 4-(2-chloro-3-pyridyl)-2-butanone (195 mg, 1.07 mmol), molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 19시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 넣고 70 psi에서 5시간 정도 반응시킨 후 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH=4:4:1)로 원하는 화합물 (210 mg, 68.1 %)을 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.24 (d, J = 6.5 Hz, 3H), 1.74 (m, 2H), 2.25 (brs, 2H), 2.57-3.08 (m, 5H), 4.69 (m, 1H), 7.13-7.56 (m, 7H), 8.24 (m, 1H); Mass m/e (%) 305 (M+1, 0.7), 197 (100).

1-(3-Chlorophenyl)-2-[3-(2-chloro-3-pyridyl)-1-methylpropylamino]-1-ethanol

벤젠에 2-amino-1-(3-chlorophenyl)-1-ethanol (180 mg, 1.05 mmol) 과 4-(2-chloro-3-pyridyl)-2-butanone (196 mg, 1.07 mmol), molecular sieve를 1.5 g 정도 넣고 20시간 정도 환류시킨 후 농축한 다음, methanol 용매 중에서 PtO₂를 20 mol % 넣고 70 psi에서 5시간 정도 반응시킨 후 관 크로마토그래피 (EA:Hex:MeOH = 4:4:1)로 원하는 화합물 (137 mg, 38.6 %) 얻었다.

¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 1.16 (d, J = 6.3 Hz, 3H), 1.71 (m, 2H), 2.41 (brs, 2H), 2.52-3.07 (m, 5H), 4.65 (m, 1H), 7.13-7.32 (m, 4H), 7.38 (s, 1H), 7.53 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.24 (m, 1H), 9.05 (d, J = 2.0 Hz, 1H); Mass m/e (%) 339 (M⁺, 11.5), 197 (100), 168 (49.3).

헤테로고리화합물의 선택적인 cyanation

General procedure for pyrano- or furo[3,2-*c*]pyridine *N*-oxides.

A mixture of pyrano- or furo[3,2-*c*]pyridine (5 mmol) and *m*-chloroperbenzoic acid (1.72 g, 50-75 %, 5-7 mmol) in dichloromethane was stirred at room temperature for 20 hours. The mixture was filtered through glass filter. The dichloromethane layer was dried over anhydrous MgSO₄ and concentrated. The corresponding *N*-oxide was obtained in 60-80 % isolated yields after silica gel column chromatography (hexane:ethyl acetate:methanol =4:4:1).

General procedure for cyanation of pyrano- or furo[3,2-*c*]pyridine *N*-oxide.

A pyrano- or furo[3,2-*c*]pyridine *N*-oxide (1 mmol) and trimethylsilyl cyanide (2 mmol) were dissolved in Et₃N (2 ml). The reaction mixture was stirred at refluxing temperature for 3-4 hours. The mixture was poured into 20 ml of cold water. The product was extracted with two 20-ml portions of ethyl acetate. The ethyl acetate layer was dried over anhydrous MgSO₄ and concentrated. The corresponding cyanated compound was obtained after silica gel column chromatography.

The following cyanated compounds were obtained using above general procedure.

5-Cyano-2,2-dimethyl-2H-pyrano[3,2-c]pyridine

Yellow oil; yield 55 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.27 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz, ArH), 6.86 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz, ArH), 6.66 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz, vinylic), 5.94 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz, vinylic), 1.52 (s, 6H, CH_3); Mass m/e (%) 168 (100), 188 (20, M^+).

7-Cyano-2,2-dimethyl-2H-pyrano[3,2-c]pyridine

Semi-solid; yield 6 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.20 (s, 1H, ArH), 7.06 (s, 1H, ArH), 6.39 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz, vinylic), 5.84 (d, 1H, $J = 10.0$ Hz, vinylic), 1.50 (s, 6H, CH_3); Mass m/e (%) 166 (66), 168 (100), 188 (21, M^+).

5-Cyano-4-methylene-3,4-dihydro-2H-pyrano[3,2-c]pyridine

Yellow oil; yield 65 %; mp 68-70 $^\circ\text{C}$; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.31 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz, ArH), 6.93 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz, ArH), 6.27 (s, 1H, vinylic), 5.45 (s, 1H, vinylic), 4.41 (t, 2H, $J = 5.8$ Hz, OCH_2), 2.70 (t, 2H, $J = 5.8$ Hz, CH_2); Mass m/e (%) 168 (100), 188 (17, M^+).

5-Cyano-2,2-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[3,2-c]pyridine

Yellow oil; yield 64 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.31 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz, ArH), 6.95 (d, 1H, $J = 5.5$ Hz, ArH), 2.13 (t, 2H, $J = 5.8$ Hz, CH_2), 1.83 (t, 2H, $J = 5.8$ Hz, CH_2); Mass m/e (%) 168 (100), 188 (25, M^+).

5-Cyano-4-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[3,2-c]pyridine

Yellow oil; yield 54 %; mp 65-67 °C; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.37 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz, ArH), 7.08 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz, ArH), 1.38 (s, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3); Mass m/e (%) 86 (100), 174 (23, M^+).

7-Cyano-4-methyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[3,2-c]pyridine

Semi-solid; yield 1 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.27 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz, ArH), 6.88 (d, 1H, $J = 5.6$ Hz, ArH), 4.32 (m, 2H, OCH_2), 3.30 (m, 1H, CH), 2.13 (m, 1H, CH), 1.82 (m, 1H, CH), 1.43 (s, 3H, $J = 7.0$ Hz, CH_3); Mass m/e (%) 159 (100), 174 (20, M^+).

5-Cyano-4,4-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[3,2-c]pyridine

mp 48-50 °C; yield 37 %; ^1H NMR (CDCl_3 , 200 MHz) δ 8.22 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz, ArH), 6.90 (d, 1H, $J = 6.6$ Hz, ArH), 4.23 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz, OCH_2), 1.95 (t, 2H, $J = 5.4$ Hz, CH_2), 1.60 (s, 6H,

CH₃); Mass *m/e* (%) 173 (100), 188 (17, M⁺), 189 (40, M⁺+1).

7-Cyano-4,4-dimethyl-3,4-dihydro-2H-pyrano[3,2-*c*]pyridine

mp 162-163 °C; yield 37 %; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 8.45 (s, 1H, ArH), 7.05 (s, 1H, ArH), 4.23 (t, 2H, *J* = 5.4 Hz, OCH₂), 1.95 (t, 2H, *J* = 5.4 Hz, CH₂), 1.60 (s, 6H, CH₃); Mass *m/e* (%) 173 (100), 188 (16, M⁺), 189 (29, M⁺+1).

4-Cyano-3-methylfuro[3,2-*c*]pyridine

mp 120-122 °C; yield 62 %; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 8.60 (d, 1H, *J* = 5.6 Hz, ArH), 7.60 (d, 1H, *J* = 5.6 Hz, ArH), 7.55 (s, 1H, ArH), 2.50 (s, 3H, CH₃); Mass *m/e* (%) 130 (23.7), 158 (100, M⁺).

4-Cyano-3-ethylfuro[3,2-*c*]pyridine

mp 73-75 °C; yield 65 %; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 8.60 (d, 1H, *J* = 5.4 Hz, ArH), 7.61 (d, 1H, *J* = 5.4 Hz, ArH), 7.59 (s, 1H, ArH), 3.00 (q, 2H, *J* = 6.0 Hz, CH₂), 1.45 (t, 3H, *J* = 6.0 Hz, CH₃); Mass *m/e* (%) 172 (100, M⁺).

4-Cyano-3-isopropylfuro[3,2-*c*]pyridine

Semi-solid; yield 63 %; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 8.50 (d,

1H, $J = 5.4$ Hz, ArH), 7.60 (s, 1H, ArH) 7.58 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz, ArH), 3.40 (m, 1H, CH), 1.35 (d, 6H, $J = 5.8$ Hz, CH₃); Mass m/e (%) 186 (100, M⁺).

4-Cyano-3,3-dimethyl-2,3-dihydrofuro[3,2-*c*]pyridine

Semi-solid; yield 25 %; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 8.36 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz, ArH), 6.90 (d, 1H, $J = 5.4$ Hz, ArH), 4.45 (s, 2H, OCH₂), 1.50 (s, 6H, CH₃); Mass m/e (%) 159 (100), 174 (23, M⁺).

6-Cyano-3,3-dimethyl-2,3-dihydrofuro[3,2-*c*]pyridine

mp 120-125 °C; yield 25 %; ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 8.30 (s, 1H, ArH), 7.10 (s, 1H, ArH), 4.35 (s, 2H, OCH₂), 1.45 (s, 6H, CH₃); Mass m/e (%) 159 (100), 174 (20, M⁺).

대조화합물 (BRL 35135)의 합성

4-Carbomethoxymethoxybenzaldehyde의 합성방법

4-Hydroxyiodobenzene (2.20 g, 10 mmol), methyl bromoacetate (2.0 g, 10 mmol), potassium carbonate (1.35 g, 10 mmol), KI (0.3 g) 을 acetone 25 ml에 녹이고 환류하여 24시간 반응시킨 후 냉각한다. 반응액을 여과, 감압증류하여 목적화합물을 column chromatography (hexane: ethyl acetate = 4:1) 로 분리하여 2.30 g (80 %)을 얻었다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz) δ 7.78 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, ArH), 6.95 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, ArH), 4.65 (s, 2H, OCH_2), 3.70 (s, 3H, OCH_3).

1-[4-(1-Carbomethoxy)methoxyphenyl]-propan-2-one

Tributyltin methoxide (15 mmol), isopropenyl acetate (15 mmol)을 플라스크에 넣고 질소를 통과시키며 1 시간동안 교반한 다음 4-Carbomethoxymethoxybenzaldehyde (10 mmol), $\text{Pd}[\text{P}(o\text{-tol})_3]_2\text{Cl}_2$ (0.1 mmol), 톨루엔 5 ml를 가하여 질소의 존재하에서 100 °C에서 8 시간 반응시킨다. 반응이 완료되면 용매를 제거한 다음 칼럼크로마토그래피에 의하여 시클로헥산으로 과량의 Tributyltin methoxide 을 제거한 다음 헥산-에틸 아세테이트 (1:2) 용매 중에서 60 % 수율로 1-[4-(1-Carbomethoxy)methoxyphenyl]-propan-2-one을 얻을 수 있다. $^1\text{H NMR}$ (CDCl_3 , 200 MHz) δ 7.09 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, ArH), 6.85 (d, 2H, $J = 9.0$ Hz, ArH), 4.60 (s, 2H, OCH_2), 3.80 (s, 3H, OCH_3), 3.60 (s, 3H, CH_2), 2.10 (s, 3H, CH_3).

(3-Chlorophenyl)-nitrile-methanol

3-Chlorobenzaldehyde (1.44 g, 10 mmol) 을 20 ml의 ethyl ether에 녹이고 zinc iodide (0.5 mmol)을 가하여 교반한다. Trimethylsilyl cyanide (2 g)을 20 ml의 ethyl ether에 희석하여 가한 후 3시간 환류시키면 반응이 완결된다. 반응종료 후 ethyl ether를 증발시키고 column chromatography (hexane: ethyl acetate= 10:1) 로 분리하여 1.0 g (60 %)의 수율로 원하는 화합물을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 7.50 (s, 1H, ArH), 7.40 (m, 3H, ArH), 5.50 (s, 1H, CHOH), 3.20 (brs, 1H, OH).

2-(3-Chlorophenyl)-2-hydroxyethylamine

(3-Chlorophenyl)-nitrile-methanol (1.0 g, 5.8 mmol) 을 40 ml의 ethyl ether 에 녹이고 LiAlH₄ (400 mg) 을 가하여 3시간 환류시킨다. 반응이 완결되면 ethyl ether 층을 감압증류시키고 NaOH 용액으로 중화하여 CH₂Cl₂로 추출한다. 위의 용액을 농축하여 칼럼 크로마토그래피 (ethyl acetate : methanol = 2 : 1)로 분리하여 2-(3-chlorophenyl)-2-hydroxyethylamine 0.5 g (50 %)을 얻었다. ¹H NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ 7.20 (m, 4H, ArH), 4.50 (s, 1H, CHOH), 3.20 (brs, 2H, NH₂), 2.65 (m, 2H, CH₂).

N-[2-(4-Carbomethoxymethoxyphenyl)-1-methylethyl]-2-hydroxy-2-(3-chlorophenyl)-ethylamine (BRL 35135)

1-[4-(1-Carboxymethoxy)methoxyphenyl]propan-2-one (0.75 g, 3.38

mmol)과 2-(3-Chlorophenyl)-2-hydroxyethylamine (0.6 g, 3.5 mmol) 을 벤젠 50 ml에 녹이고 1.0 g 의 molecular sieve를 가하여 Dean-Stark 장치로 물을 제거하며 3-4 시간동안 물이 완전히 제거 되도록 반응시킨다. 반응이 완결되면 벤젠을 완전히 제거한 후 잔여 oil product를 메탄올 30 ml에 녹여서 수소화반응을 1-2 % 의 PtO₂ 촉매와 methyl acetate 용매를 이용하여 상온 상압 (15 psi) 반응시킨다. 반응용액을 여과하고 증류시킨 후 잔여물을 column chromatography (hexane: ethyl acetate: methanol = 2 : 2 :1) 로 분리하여 원하는 화합물을 650 mg (50 %) 얻었다. 위의 반응에서 diastereoisomer를 분리하기 위하여 methyl acetate 존재하에서 HBr 기체를 통과시킨 결과 고체가 생성되지 않았다. 고체를 형성하기 위하여 methyl acetate 를 제거하고 ethyl ether 용매 중에서 -10 °C 에서 2일간 보관하여 원하는 화합물을 결정화하였다.

라. 약효 측정 방법

항 비만 및 항 당뇨병 치료제로 사용할 수 있는 β_3 -adrenoceptor agonist를 개발하기 위하여서는 다른 β -adrenergic 효과없이 지방세포의 β_3 -adrenoceptor만을 자극하는 물질을 검정해낼 수 있어야 한다. 합성한 유도체의 항 당뇨 및 항 비만 효과를 검정하는 본 과제에서는 β_1 혹은 β_2 -adrenoceptor에 대한 효과는 없이 β_3 -adrenoceptor에 대한 효과만을 검정할 수 있는 *in vivo* 검정법을 개발하였으며 합성된 약물의 효능을 검색하고자 하였다. 이후에는 계속 합성되는 약물의 효능 검색과 함께 *in vivo* 시험에서 효능이 확인된 약물을 대상으로 *in vivo* 혈당강하 효과 및 체중 감소 효과를 검정하고 이들의 작용기전과 약동력학적 연구를 병행하려 한다.

1) *in vivo* functional assay

합성된 후보물질의 항 당뇨 및 항 비만 효능을 일차적으로 검색하기 위해서는 *in vivo* 검색법이 간편하고 경제적이다. 먼저 지방세포에서의 지방분해 효능 시험을 통해 β -adrenoceptor agonists를 가려낸 다음, 심방근 수축시험 (β_1 -adrenoceptor)과 guinea pig 기관지 평활근 이완시험 (β_2 -adrenoceptor)을 통해 β_3 -adrenoceptor에만 선택적으로 작용하는 물질을 찾아낸다.

가. Lipolysis and glycerol determination

현재까지 진행된 β_3 -adrenergic receptor 연구에 주로 사용된 실험법이 지방세포에서의 지방분해 효과에 의거한 기능적인 연구방법이다. 본 연구에서는 β_3 -adrenoceptor agonists의 지방분해 효과를, 세포막 β -adrenoceptor의 90 %가 β_3 type인 ($\beta_1 < 10$ %, $\beta_2 < 1$ %) 3T3-F442A 지방세포를 사용하여 측정한다.

가) Cell culture: 3T3-F442A fibroblast는 10 % fetal calf serum을 첨가한 Dulbecco and Eagles's modified medium을 사용하여 배양한다. 세포가 confluent하게 자라면 $1 \mu\text{g/ml}$ 의 인슐린을 첨가하여 지방세포로의 전환을 유도하는데 7일 후면 95 % 이상의 세포들이 지방세포로 변화된다.

나) Lipolysis experiment: 지방분해 효과는 24-well plate에 부착된 세포에서 분비되는 glycerol의 양으로 측정한다. 지방세포 monolayer를 2 % bovine serum albumin, 4.5g/L glucose, $50 \mu\text{g/ml}$ $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_2$ 를 포함하는 KRB용액으로 씻어낸다. 다음, 세포에 시험하고자 하는 약물을 포함하는 KRB용액 1 ml를 가하고 37°C , 5 % CO_2 를 포함하는 humidified atmosphere에서 90 분동안 배양한다. 일정량의 배양액을 모아 glycerol의 양을 측정한다.

다) Measurement of glycerol concentration: 배양액의 glycerol 농도는 McGowan등의 peroxidase-coupled colorimetric 방법을 사용하여 측정한다.

라. β_1 -selectivity 검사: Rat atrial and tension test

수컷 Sprague-Dawley rat의 심장을 적출하여, 우심방을 손상이 안가도록 분리하여낸다. 다음, 우심방을 tissue chamber내에서 isomeric force transducer에 매단다. 이때의 생리완충액으로 95 % 산소/5 %이산화탄소로 포화시킨 Krebs-Ringer bicarbonate buffer를 사용하며 온도는 37°C로 유지한다. 측정대상은 수축력과 빈도 (rate)이며, 두 지표의 향진이 β_1 -selective 효과로 판정된다. 대조 약물은 norepinephrine이며, 검사약물 효과의 EC₅₀를 이와 대조한다.

마. β_2 -selectivity 검사: Guinea pig tracheal relaxation

수컷 Hartley guinea pig의 기도를 적출하여 나선의 절편을 만든다. 이 조직 절편을 tissue chamber내에서 isometric force transducer에 매단다. 이때의 생리완충액으로 95 %산소/5 %이산화탄소로 포화시킨 Krebs-Ringer bicarbonate buffer를 사용하며 온도는 30 °C로 유지한다. 1시간동안 조직의 안정과 수축력의 최적화 과정을 거친 후, histamine (1-10 μ M)을 수축 유발제로 사용한다. Histamine으로 수축을 시킨 후, 검사 약물을 투여하고 수축의 이완 정도를 측정하여 백분율로 표시한다. 이때 대조약물로는 β_2 -agonist인 salbutamol 또는 fenoterol을 사용한다. 검사대상 약물의 효과는 농도별로 실험을 하여 구한 IC₅₀ 또는 pA₂ 값을 대조약물과 비교하여 판정한다. 실험결과 (*in vitro* test)는 0.1 μ M농도에서의 lipolysis 결과를 다음 표에 나타내었다. 위의 실험결과 약효가 있는 화합물은 IC₅₀ 값 및 β_3 -adrenoceptor의 선택성을 조사중이다.

#	Concentration	% of Maximal Effect (Lipolysis)
BRL 35135	10 ⁻⁶ (M)	123
1	10 ⁻⁶ (M)	0
2	10 ⁻⁶ (M)	137
3	10 ⁻⁶ (M)	86
4	10 ⁻⁶ (M)	42
5	10 ⁻⁶ (M)	116
6	10 ⁻⁶ (M)	49
7	10 ⁻⁶ (M)	104
8	10 ⁻⁶ (M)	16
9	10 ⁻⁶ (M)	35
10	10 ⁻⁶ (M)	97
11	10 ⁻⁶ (M)	40
12	10 ⁻⁶ (M)	90
13	10 ⁻⁶ (M)	26
14	10 ⁻⁶ (M)	58
15	10 ⁻⁶ (M)	77
16	10 ⁻⁶ (M)	35
17	10 ⁻⁶ (M)	42
18	10 ⁻⁶ (M)	111
19	10 ⁻⁶ (M)	49
20	10 ⁻⁶ (M)	63
21	10 ⁻⁶ (M)	74
22	10 ⁻⁶ (M)	93

한편 1,2 차년도의 화합물중에 β_3 -adrenoceptor에 *in vitro*에서 효능이 있는 화합물에 대하여 β_1 - 및 β_2 -adrenoceptor에 대한 선택성을 검사하였다.

	β_2		β_1	
	농도	tracheal relaxation	농도	tracheal relaxation
1	10^{-8}	-	10^{-8}	--
	10^{-7}	-	10^{-7}	-
	10^{-6}	+	10^{-6}	-
2	10^{-8}	-	10^{-8}	-
	10^{-7}	-	10^{-7}	--
	10^{-6}	+	10^{-6}	-
3	10^{-8}	+	10^{-8}	--
	10^{-7}	+	10^{-7}	-
4	10^{-8}	-	10^{-8}	-
	10^{-7}	-	10^{-7}	-
	10^{-6}	+	10^{-6}	-
5	10^{-8}	-	10^{-8}	--
	10^{-7}	-	10^{-7}	-
	10^{-6}	+	10^{-6}	-
6	10^{-8}	-	10^{-8}	-
	10^{-7}	--	10^{-7}	--
	10^{-6}	+	10^{-6}	--
7	10^{-8}	--	10^{-8}	-
	10^{-7}	+	10^{-7}	-
	10^{-6}	+	10^{-6}	-
8	10^{-8}	-	10^{-8}	--
	10^{-7}	-	10^{-7}	-
	10^{-6}	+	10^{-6}	-
9	10^{-8}	--	10^{-8}	--
	10^{-7}	-	10^{-7}	-
	10^{-6}	+	10^{-6}	-
10	10^{-8}	--	10^{-8}	-
	10^{-7}	--	10^{-7}	--
	10^{-6}	-	10^{-6}	-
11	10^{-8}	+	10^{-8}	--
	10^{-7}	+	10^{-7}	-
	10^{-6}	+	10^{-6}	-
BRL 35135	10^{-9}	--	10^{-9}	-
	10^{-8}	-	10^{-8}	--
	10^{-7}	--	10^{-7}	-
	10^{-6}	-	10^{-6}	-
	10^{-5}	+	10^{-5}	--

4. 연구개발 목표달성도 및 대외기여도

지금까지의 연구는 기초적인 단계로서 우선 활성을 찾는 일에 전력하고 새로운 활성을 가지는 화합물을 만들기 위하여 새로운 합성법의 개발을 시도하였다. 뛰어난 합성방법을 개발하여 학회발표 및 논문발표를 통하여 학문적인 목표는 달성한 것으로 사려된다. 계획된 화합물의 갯수는 예상목표를 달성하였으며 *in vitro*에서 효능이 있는 화합물을 수 개 도출하여 다른 adrenoceptor에서의 선택성을 탐색중이다. 이들 화합물을 활성의 최적화 노력을 하면 뛰어난 활성을 나타내는 선도화합물을 찾아낼 수 있으리라 예상된다. 본 연구소에 *in vivo* 및 신약개발에 필요한 고단위의 약리시험을 위한 연구를 확립중이며 이를 토대로 화합물의 최적화 및 선도화합물을 도출할 수 있으리라 예상된다.

지금까지 연구를 수행하며 발표된 논문 및 학회발표는 다음과 같으며 “차세대 정밀화학 연구사업”의 신규과제로 전환하였다.

1. "A Facile Synthesis of 2,3-Disubstituted Pyrolo[2,3-*c*]-pyridines via Palladium-catalyzed Heteroannulation with Internal Alkynes", *Tetrahedron Lett*, **1998**, *39*, 627.
2. "Reaction of Pyrano- and Furo[3,2-*c*]pyridine *N*-oxides with Trimethylsilyl Cyanide", *Bull Korean Chem. Soc.* **1998**, *19*, 1014.

3. "Synthesis of Fused Heterocycles *via* Palladium-catalyzed Cyclization", 제 7회 헤테로고리 화합물의 화학 심포지움, 1998년 9월 26일, 대한화학회 강원지부.
4. "Synthesis of Anti-diabetic Agents *via* Palladium-catalyzed Functionalization of Heteroaromatics", 제 82차 대한화학회 추계 총회, 1998년 10월, 선문대학교.
5. "Synthesis of 2,3-Disubstituted Pyrolo[2,3-*c*]pyridines *via* Palladium-catalyzed Heteroannulation with Internal Alkynes", 제 17차 대한화학회 유기분과회 심포지움, 1998년 2월, 한국화학연구소

5. 연구개발결과의 활용계획

서구화된 식생활로 필요이상으로 많은 영양분을 섭취하는 반면 운동량은 부족해 비만이 늘고 있으며 비만은 당뇨병의 근원이라고 알려져 있어 많은 전문가들이 장래의 당뇨병 연구분야가 비만을 줄이고 혈당을 조절하는 방향으로 진행되어야 한다고 생각하고 있다. 최근 많은 제약회사들이 β_3 -Adrenoceptor agonist에 많은 개발 노력을 기울이고 있어 수 개의 화합물이 임상 2상 및 전임상 단계에 들어가 있는 상태이다. 우리의 지금까지 연구 결과는 기초단계이지만 구조변형을 통한 약효의 최적화를 통하여 우수성이 입증되면 특허출원으로 지적재산권을 보호하고 “차세대 정밀화학 연구사업”의 과제로 확대, 진행한 후 기업 주도의 연구로 전환할 예정이다.

6. 참고 문헌

1. 김응진, 이상용, 민병석, 민헌기, 최영길, 이태희, 허갑범 : 당뇨병학, 대한당뇨병학회, 1992
2. R. Bonny, "Dealing with the Diabetes Epidemic", *Scrip Magazine*. December, 40, 1995.
3. W. K. Hagmann, "Recent advancements in the Discovery and Development of Agents for the Treatment of Diabetes", *Ann. Rep. Med. Chem*, 30, 159, 1995.
4. L. Nainggolan. "New Products for 1996", *Scrip Magazine*, January, 60, 1996.
5. Haghess, "A Good Year in R and D", *Scrip Magazine*, January, 48, 1996.
6. Glimepiride, *Drugs Fut*, 17, 744, 1992.
7. K. L. Kees, "Studies on New Acidic Azoles as Glucose-Lowering Agents in Obese, Diabetic db/db Mice", *J. Med. Chem*, 38, 617, 1995.
8. D. R. Gehlert, D. J. Goldstein, P. A. Hipskind, "Treating Obesity in the 21st Century", *Ann. Rep. Med. Chem.* 31, 201, 1996.
9. T. H. Claus, J. D. Bloom, " β_3 -Selective Adrenergic Receptor Agonist", *Ann. Rep. Med. Chem.* 30, 189, 1995.
10. R. Howe, " β_3 -Adrenergic Agonists", *Drugs. Fut*, 18, 529, 1993.
11. A. E. Weber, " β_3 -Adrenergic Receptor Agonist for the Treatment of Obesity", *Ann. Rep. Med. Chem.* 33, 193, 1998.