

Synthesis and Biological Evaluation of 1,3-Oxathiolanyl Nucleosides

정 낙 신

이화여자대학교 약학대학

후천성 면역결핍증(AIDS)이 전 세계적으로 문제가 된 질병으로 인식된 이래 AIDS의 치료를 위한 새로운 치료제의 개발이 전 세계적으로 중요한 목표가 되어왔다. 수 많은 개발된 물질중에서 lymphocytes와 macrophage에서의 면역결핍성 바이러스(HIV)에 의한 급성간염을 억제하거나 제거하는데 있어 뉴클레오사이드 유도체들이 아주 중요한 역할을 해오고 있다.

지금까지 개발된 새로운 뉴클레오사이드 유도체중에서 현재 4종류의 뉴클레오사이드 유도체가 FDA에 의해 공인이 되어 AIDS환자의 치료에 사용되고 있다. (Figure 1)

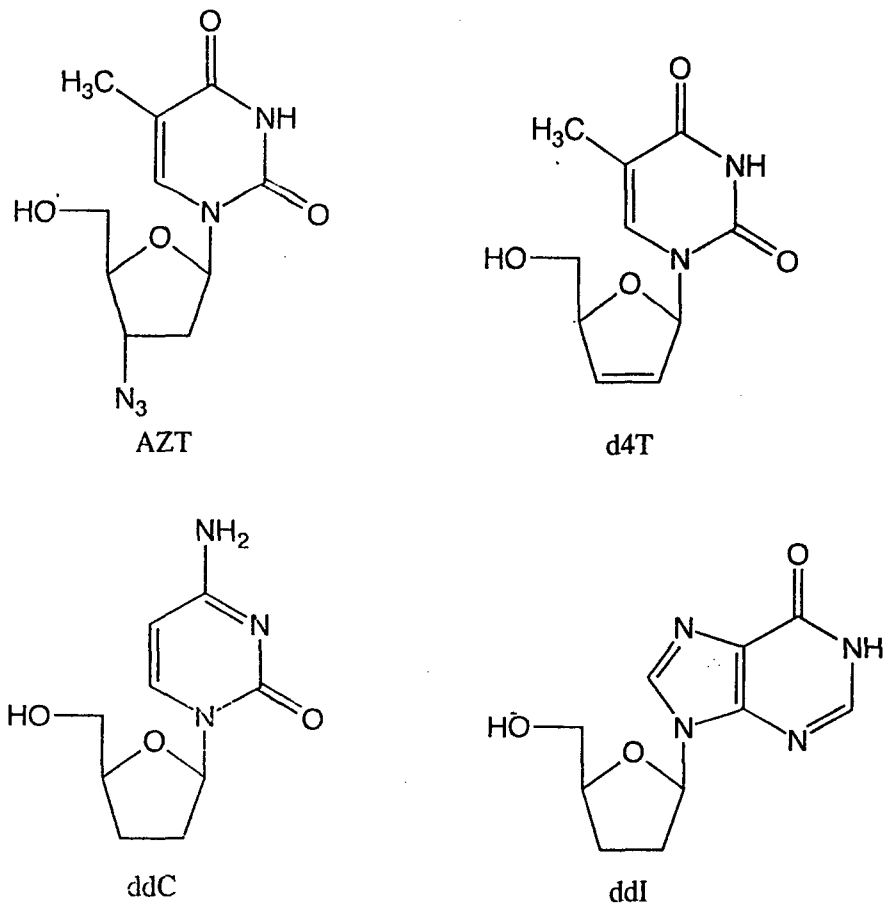


Figure 1. Structures of AZT, d4T, ddC and ddI

이 약물들을 살펴보면 3'-azido-3'-deoxythymidine (AZT), 2',3'-dideoxyinosine (ddI), 2',3'-dideoxycytidine (ddC), 2',3'-dideohydro-3'-deoxythymidine (d4T)인데 이들 약물들의 독성등 심각한 부작용 때문에 AIDS 환자의 치료에 이상적인 약물이 아니므로 새로운 항 AIDS약물의 개발이 시급하다고 사료된다.

지금까지 이들 4가지 약물을 바탕으로 독성이 적고 효능이 우수한 항 AIDS약물들이 많이 합성되어 왔는데 그중에 furanose ring의 3번위치의 CH₂ group이 산소 혹은 유황으로 바뀐 새로운 형태의 2',3'-dideoxynucleoside가 좋은 항 AIDS 효과를 나타낸 것으로 발표되었다. (Figure 2) 그 중에서 특히 2',3'-dideoxy-3'-thiacytidine (BCH-189)이 아주 좋은 항 AIDS효과를 보여 주었지만 (EC₅₀ = 0.73 μM in MT2 cells) racemic물질로서 합성되었기 때문에 Racemic물질의 각각의 enantiomer를 합성하여 이들의 항 AIDS효과를 비교해 보는 것이 매우 가치있는 실험이라 사료되었다. Racemic물질의 분리에는 크게 두 가지 방법으로 나뉘어 지는데 하나는 enzyme을 이용하여 분리하는 방법이고 다른 하나는 chiral template에서 시작하여 각각의 enantiomer를 만드는 방법인데 후자 방법은 공통중간체를 이용하여 BCH-189뿐만 아니라 다른 유도체들을 합성할 수 있기 때문에 체계적인 구조-활성관계를 연구할수 있다는 장점이 있다.

자연에 존재하는 모든 뉴클레오사이드와 대부분의 생리활성이 있는 뉴클레오사이드 유도체들은 β-D-configuration을 가지고 있기 때문에 (±)-BCH-189의 β-D-isomer를 먼저 합성하였다. (+)-β-D-BCH-189는 D-mannose혹은 D-galactose에서 시작하여 D-1,3-oxathiolanyl acetate를 거쳐 enantioselective하게 합성되었다. PBM cell에서 항AIDS효과 실험결과 놀랍게도 천연에 존재하는 형태인 (+)-β-D-BCH-189이 racemic BCH-189보다 효능이 떨어지는 것으로 발견되었으며 독성도 더 심한 것으로 판명되었다.

이와 같은 예외적인 실험결과는 (-)-β-L-BCH-189dl racemic혹은 (+)-β-D-BCH-189보다 항 AIDS효능이 더 우수할 것으로 추측되어 (-)-β-L-BCH-189을 L-gulose에서 시작하여 L-1,3-oxathiolanyl acetate을 거쳐 enantioselective하게 합성하였다. (Figure 3)

항 AIDS효능 실험결과 (-)-β-L-BCH-189이 (+)-β-D-BCH-189 혹은 racemic BCH-189보다 효능이 훨씬 우수한 것으로 판명되었으며 독성도 가장 적은 것으로 관찰되었다. 또한 B형 간염 바이러스에 대한 실험 역시 (-)-β-L-BCH-189이 효능이 가장 우수하며 독성이 가장 적은 물질로 판명 되었다.

이 두 물질 (+)-β-D-BCH-189, (-)-β-L-BCH-189의 생체내 대사 연구결과 두 물질 모두 다 triphosphates로 전환된후 HIV reverse transcriptase (RT)에 기질로 작용하여 HIV DNA에 삽입이 되어 Viral DNA chain의 성장을 멈추게 하는 작용기전을 보여주었다. 그러나 (-)-β-D-BCH-189의 경우 cytidine deaminase에 기질로 작용하여 활성이 없는 uracil 유도체로 전환되는 것으로 관찰되었으나 (-)-β-L-BCH-189의 경우 동일효소에 기질로 작용을 안하므로 그대로 활성형으로 존재하는 것으로 관찰되었다. 이러한 결과는 (-)-β-L-BCH-189

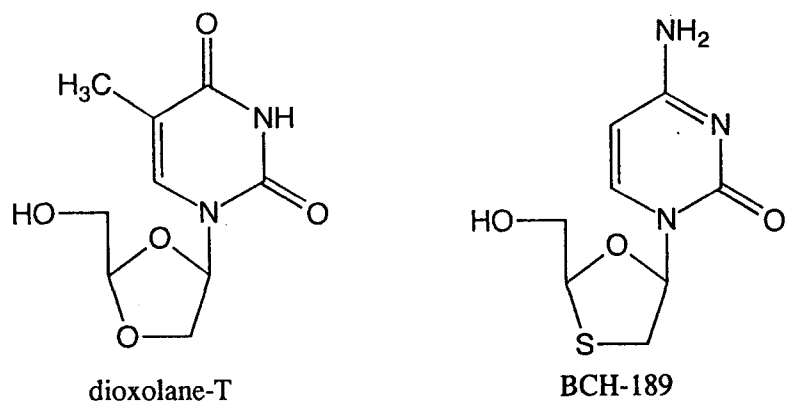


Figure 2. Structures of Racemic Dioxolane-T and BCH-189

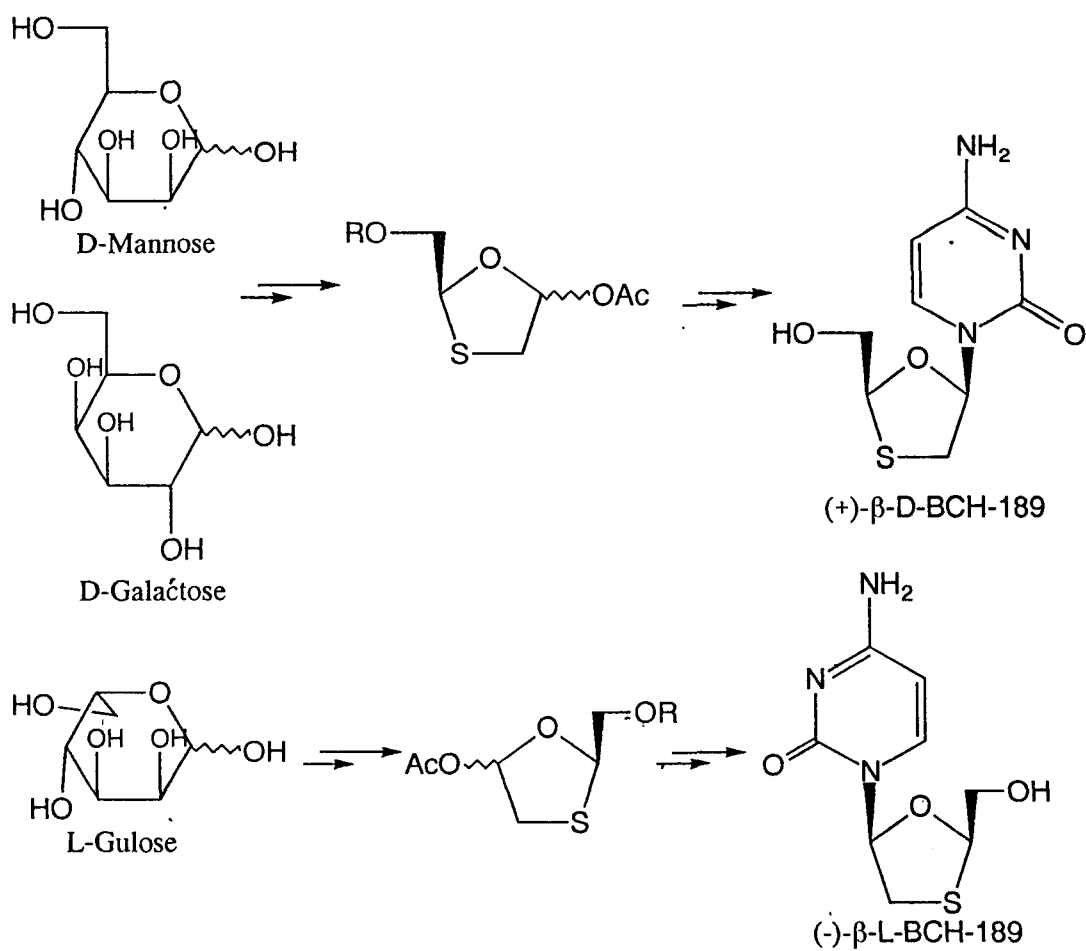


Figure 3. Enantiomeric Syntheses of BCH-189 Starting from Carbohydrates

이 (+)- β -D-BCH-189보다 왜 항AIDS작용이 우수한가를 설명해 주는 자료라 사료된다. 또한 active metabolite인 (-)- β -L-BCH-189 triphosphate가 (+)- β -D-BCH-189 triphosphate보다 반감기가 더 길어 세포 내에서의 유효농도가 더 높은점도 활성의 차이를 설명해 주고 있다.

이와 같은 실험적 결과를 바탕으로 L-isomer가 D-isomer보다 더 효능이 우수하다는 사실이 다른 유도체들에도 적용되는지를 보기 위해 여러 pyrimidine 및 purine 뉴클레오사이드 유도체들을 합성 (Figure 4)하여 이들의 항 AIDS효과 및 독성을 비교하였다. (Table 1 and 2)

β -D-1,3-oxathiolanyl nucleosides의 항 AIDS효과 및 독성은 table 1에 보여진다. 5번 위치가 X (H, CH₃, F, Cl, Br, I)로 치환된 uracil 유도체의 경우 대부분 항AIDS작용이 없는 것으로 발견되었다. 그 이유를 살펴 보면 nucleoside kinase에 대한 친화력의 부족으로 active metabolites인 triphosphates로 전환이 안 되었기 때문이라 추측된다. 반면 상응하는 cytosine 유도체의 경우, 대부분의 물질들이 좋은 항 AIDS작용을 보여주는데 nucleoside kinase에 대한 좋은 친화력에 기인하는 것으로 사료된다.

purine nucleosides의 경우에는 X,Y 두 곳에 치환된 물질들이 X 한곳에 치환된 물질보다 항 AIDS작용이 떨어지는 것으로 발견되었는데 치환체 Y의 steric effect가 nucleoside kinase 혹은 HIV-RT의 친화력에 영향을 끼치는 것으로 사료된다.

β -L-1,3-Oxathiolanyl nucleosides의 항 AIDS작용 및 독성에 대해 살펴 보면 (table 2), β -D-체와 마찬가지로 uracil 유도체의 경우 항AIDS작용이 거의 나타나지 않았으며 cytosine 유도체의 경우는 대부분이 매우 우수한 항AIDS효과를 나타내었는데 그 중 5-fluorocytosine유도체는 lead compound보다 더 항AIDS작용(EC₅₀ = 0.0013 μ M)을 나타낸 것으로 관찰되었다.

Purine 유도체의 경우 β -D-체와 비슷한 pattern을 보여주는데 adenine 유도체가 가장 좋은 항AIDS작용을 나타내었다.

이상의 구조-활성연구결과 β -L-5-fluorocytosine 유도체가 합성된 모든 물질 중에서 가장 우수한 항 AIDS작용을 보여 주는 것으로 판명되었는데 cytosine의 경우와 마찬가지로 β -L-체가 β -D-체보다 더 우수한 효능을 보여준 점이 특이할만한 사항이라 사료된다.

결론적으로 cytosine과 5-fluorocytosine 유도체를 제외하고는 다른 유도체들은 D체가 L체보다 더 우수한 효능을 보여주었으며 L-cytosine과 L-5-fluorocytosine이 상응하는 D형보다 효능이 더 우수하다는 사실이 최초의 예란 점에서 이 실험의 의의를 찾을 수 있다.

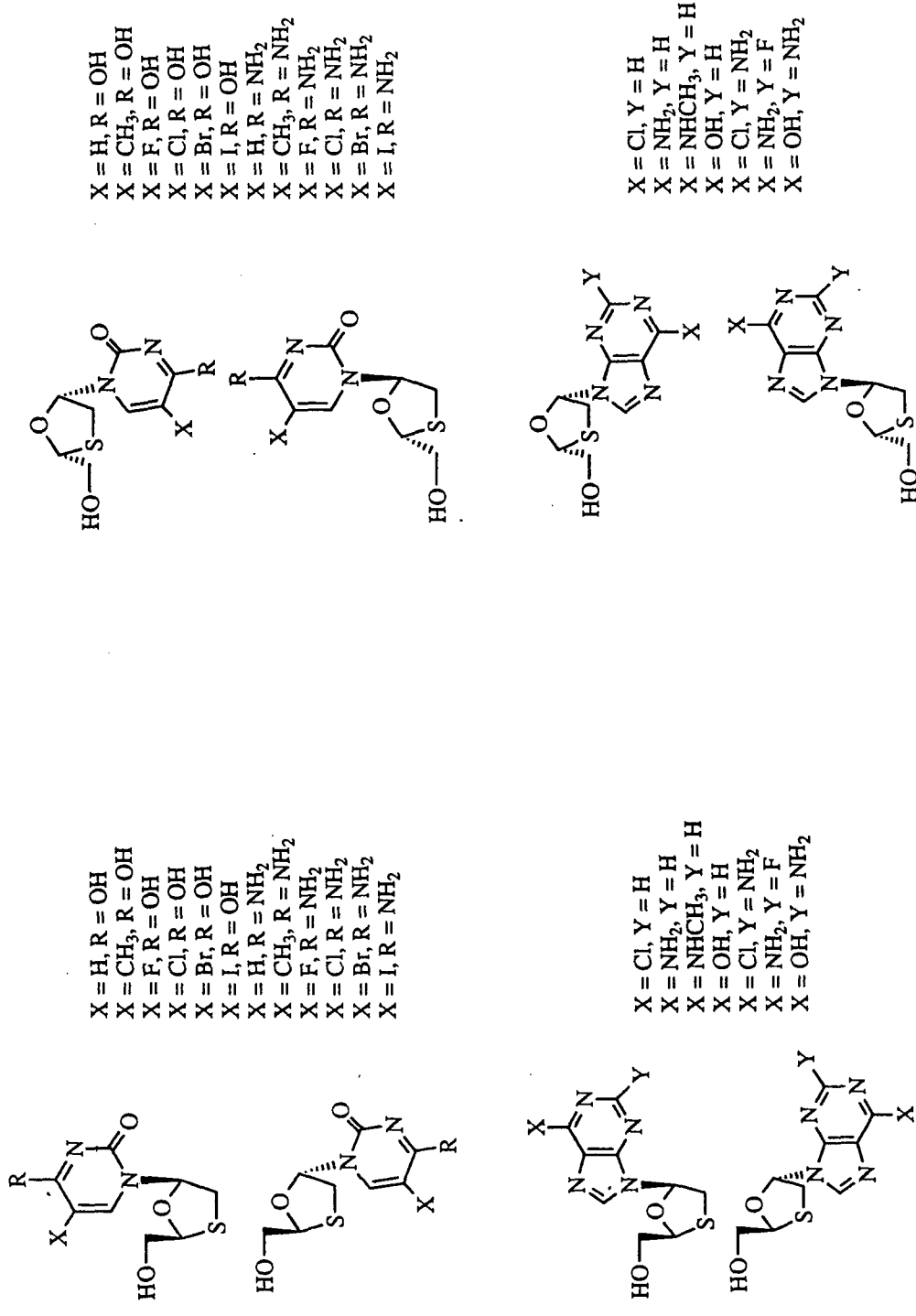


Figure 4. Synthesis of D- and L-1,3-Oxathiolanyl Pyrimidines and Purines

Median Effective (EC₅₀) and Inhibitory (IC₅₀) Concentration of β-D-(2S,5R)- and α-D-(2S,5S)-Oxathiolanyl-Pyrimidine Nucleosides in PBM Cells and Vero Cell. (Table 1)

| Compounds | | Anti-HIV-1 in PBM Cells EC ₅₀ (μM) | Cytotoxicity in PBM Cells IC ₅₀ (μM) | Cytotoxicity in Vero Cells IC ₅₀ (μM) |
|--------------------------------|--------|---|---|--|
| Base | Anomer | | | |
| uracil | (+)-β | 94.7 | > 100 | > 100 |
| uracil | (-)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| thymine | (+)-β | 11.6 | > 100 | > 100 |
| thymine | (-)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-F-uracil | (+)-β | 6.3 | > 100 | > 100 |
| 5-F-uracil | (-)-α | 2.3 | > 100 | > 100 |
| 5-Cl-uracil | (+)-β | 30.4 | > 100 | > 100 |
| 5-Cl-uracil | (-)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-Br-uracil | (+)-β | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-Br-uracil | (-)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-I-uracil | (+)-β | 29.3 | > 100 | > 100 |
| 5-I-uracil | (-)-α | 112.1 | > 100 | > 100 |
| cytosine | (+)-β | 0.21 | > 100 | > 100 |
| cytosine | (-)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-Me-cytosine | (+)-β | 0.172 | > 100 | > 100 |
| 5-Me-cytosine | (-)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-F-cytosine | (+)-β | 0.38 | > 100 | > 100 |
| 5-F-cytosine | (-)-α | 77.5 | > 100 | > 100 |
| 5-Cl-cytosine | (+)-β | 0.28 | > 100 | > 100 |
| 5-Cl-cytosine | (-)-α | >100 | > 100 | 31.15 |
| 5-Br-cytosine | (+)-β | 0.012 | > 100 | > 100 |
| 5-Br-cytosine | (-)-α | >100 | > 100 | >100 |
| 5-I-cytosine | (+)-β | 1.9 | > 100 | > 100 |
| 5-I-cytosine | (-)-α | 0.28 | > 100 | > 100 |
| 6-Cl-purine | (-)-β | 0.48 | > 100 | 46.5 |
| 6-Cl-purine | (-)-α | 2.7 | > 100 | 86.1 |
| adenine | (-)-β | 0.28 | > 100 | > 100 |
| adenine | (-)-α | 11.9 | > 100 | > 100 |
| N-Me-adenine | (-)-β | 1.1 | > 100 | > 100 |
| N-Me-adenine | (-)-α | 11.7 | > 100 | > 100 |
| inosine | (-)-β | 0.05 | > 100 | > 100 |
| inosine | (-)-α | 100 | > 100 | > 100 |
| 2-F-adenine | (-)-β | 2.8 | > 100 | 5.6 |
| 2-F-adenine | (-)-α | 61.9 | > 100 | 45.4 |
| 2-NH ₂ -6-Cl-purine | (+)-β | 5.6 | > 100 | > 100 |
| 2-NH ₂ -6-Cl-purine | (-)-α | 0.52 | > 100 | > 100 |
| guanine | (+)-β | 0.83 | > 100 | > 100 |
| guanine | (-)-α | 7.62 | > 100 | 63.6 |
| AZT | | 0.004 | > 100 | > 100 |

L. S. Jeong *et al.* *J. Med. Chem.* **1993**, *36*, 2627-2638.

Median Effective (EC₅₀) and Inhibitory (IC₅₀) Concentration of β-L-(2R,5S)- and α-L-(2R,5R)-Oxathiolanyl-Pyrimidine Nucleosides in PBM Cells and Vero Cells. (Table 2)

| Compounds | | Anti-HIV-1 in PBM Cells | Cytotoxicity in PBM Cells | Cytotoxicity in Vero Cells |
|--------------------------------|--------|----------------------------|------------------------------|-------------------------------|
| Base | Anomer | EC ₅₀ (μM) | IC ₅₀ (μM) | IC ₅₀ (μM) |
| uracil | (-)-β | 11.7 | > 100 | > 100 |
| uracil | (+)-α | 32.8 | > 100 | > 100 |
| thymine | (-)-β | 34.3 | > 100 | > 100 |
| thymine | (+)-α | 4.4 | > 100 | > 100 |
| 5-F-uracil | (-)-β | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-F-uracil | (+)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-Cl-uracil | (-)-β | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-Cl-uracil | (+)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-Br-uracil | (-)-β | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-Br-uracil | (+)-α | 121.0 | > 100 | > 100 |
| 5-I-uracil | (-)-β | 92.9 | > 100 | > 100 |
| 5-I-uracil | (+)-α | 157 | > 100 | > 100 |
| cytosine | (-)-β | 0.0018 | > 100 | > 100 |
| cytosine | (+)-α | 10.1 | > 100 | > 100 |
| 5-Me-cytosine | (-)-β | 1.90 | > 100 | > 100 |
| 5-Me-cytosine | (+)-α | 0.45 | > 100 | > 100 |
| 5-F-cytosine | (-)-β | 0.0013 | > 100 | > 100 |
| 5-F-cytosine | (+)-α | 0.43 | > 100 | > 100 |
| 5-Cl-cytosine | (-)-β | 31.8 | > 100 | > 100 |
| 5-Cl-cytosine | (+)-α | > 100 | > 100 | 31.15 |
| 5-Br-cytosine | (-)-β | 2.51 | > 100 | > 100 |
| 5-Br-cytosine | (+)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 5-I-cytosine | (-)-β | 0.14 | > 100 | > 100 |
| 5-I-cytosine | (+)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 6-Cl-purine | (+)-β | 1.44 | > 100 | 20.2 |
| 6-Cl-purine | (+)-α | 2.75 | > 100 | 32.7 |
| adenine | (+)-β | 1.01 | > 100 | > 100 |
| adenine | (+)-α | 78.9 | > 100 | > 100 |
| N-methyladenine | (+)-β | 15.0 | > 100 | > 100 |
| N-methyladenine | (+)-α | 13.0 | > 100 | > 100 |
| inosine | (+)-β | > 100 | > 100 | > 100 |
| inosine | (+)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| 2-F-adenine | (+)-β | 16.3 | > 100 | > 100 |
| 2-F-adenine | (+)-α | 15.8 | > 100 | < 0.1 |
| 2-NH ₂ -6-Cl-purine | (-)-β | 9.8 | > 100 | 48.5 |
| 2-NH ₂ -6-Cl-purine | (+)-α | 42.1 | > 100 | > 100 |
| guanine | (-)-β | 10.2 | > 100 | > 100 |
| guanine | (+)-α | > 100 | > 100 | > 100 |
| AZT | | 0.004 | > 100 | > 100 |
| BCH-189 | (±) | 0.02-0.06 | > 100 | > 100 |

L. S. Jeong *et al.* *J. Med. Chem.* **1993**, 36, 181-195.