

소염진통제의 개발

I. Isoxazole 유도체

박노상* · 김현숙 · 민창희 · 최중권

한국화학연구소

(Received February 3, 1990)

Development of Antiinflammatory Agents

I. Isoxazole Derivatives

No-Sang Park*, Hyun-Sook Kim, Changhee Min, Joong-Kwon Choi

Korea Research Institute of Chemical Technology

P.O.Box 9, Daedeogdanji, Daejeon, 305-606, KOREA

Abstract — 3-Substituted 5-aminoisoxazole-4-carboxylates were prepared by the reaction of corresponding bormoaldoximes with cyanoacetate. The 3-trifluoromethylisoxazole derivatives were acylated to amides with various aminopyridine derivatives to afford diamides. The ester group was hydrolyzed and decarboxylated easily to give 3-trifluoromethyl-5-aminoisoxazole. The aminoisoxazole was also converted to amides. 5-Amino-3-trifluoromethylisoxazole-5-one-4-carboxylate was prepared by the reaction of trifluoroacetoaldoximoyl bromide and malonate. 5-Amino-3-methylisoxazole-5-one-4-acetate was prepared by the reaction of hydroxylamine and acetylmalonate. The synthesized compounds were tested for antiinflammatory activities.

염증(Inflammation)은 여러 가지 형태의 감염이나 생체내 대사산물 중의 자극성물질에 대한 생체 방어기전의 발현이라고 할 수 있다. 그러나 아직까지도 염증의 정확한 발현기전이 밝혀지지 않았기 때문에 이들의 치료에 정확한 목표가 정립되어 있지는 않으나 최근 arachidonic acid의 대사산물들이 염증에 주로 관여하는 것이 알려져 arachidonic acid의 대사효소인 5-lipoxygenase와 cyclooxygenase의 inhibitor 개발에 역점을 두고 있다.¹⁾

NSAID(non-steroidal anti-inflammatory drugs; 비스테로이드 소염진통제)의 역사는 aspirin으로부터 시작되어 1940년대에는 phenylbutazone 등의 pyrazolone 유도체들이 개발되었으나 이들은 소염작용보다는 진통작용이 강한 약물들이라 하겠고 1950년대에 corticosteroids들이 개발되면서 관절염 등의 치료에도 사용하게 되었다. 뒤이어

ibuprofen이 개발되었고, 이 arylalkanoic acid 계열의 수 많은 화합물이 합성되었다.

1979년 Piroxicam이 유럽에서 처음으로 임상에서 사용된 후, 기존의 NSAID 시장에 일대 변혁이 왔다. Piroxicam은 새로운 구조(oxicam)의 소염진통제로서, 최근 이 계열의 소염진통제들은 Piroxicam의 3-carboxylic acid를 pyridine, thiazole, isoxazole 등의 aromatic heterocyclic amine 유도체를 사용하여 amide로 바꾼 것들이 대부분이다. 다른 Piroxicam의 분자수식으로는 3번 위치의 hydroxy와 amide의 질소원자를 cycle의 형태로 결합시키는 방법으로, Droxicam이 대표적이며 benzothiazine 구조의 benzene 핵을 다른 heteroaromatic 구조로 대체시킨 화합물들이 개발되었는데 Tenoxicam이 대표적이다.

Isoxazole계 화합물 중에는 다양한 생리활성을

나타내는 것들이 많이 알려져 있다.²⁾ 본 연구는 이들 isoxazole의 생리활성들을 이용하여 새로운 isoxazole 유도체들을 합성하고 이들 화합물의 활성을 검색하여 우수한 약효와 새로운 작용기전을 갖는 소염진통제를 개발하려는 목적으로 수행되었다.

합 성

본 연구에서는 isoxazole의 유도체로서 3- 위치가 치환된 5-aminoisoxazole과 isoxazolidin-5-one 유도체들을 합성하여 소염진통제로서의 활성을 검사하였다.

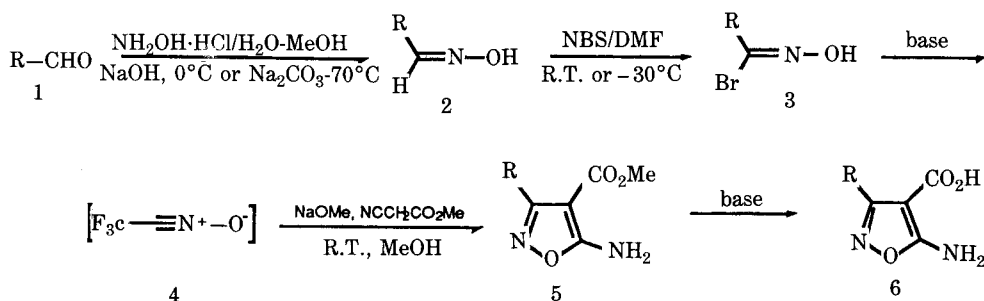
5-Aminoisoxazole-4-carboxylate 유도체들은 다음의 Scheme 1에 의해서 합성하였다.³⁾ Aldehyde를 hydroxylamine hydrochloride와 0°C에서 반응시켜 oxime을 만들고, 여기에 N-bromosuccinimide(NBS)를 이용하여 bromination하면 bromooxime이 얻어진다. 이 bromooxime을 base의 존재하에 cyanoacetate와 축합시켜 5-amino-3-alkyl isoxazole-4-carboxylate들을 합성하였다.⁴⁾ 이 과정에서 중간체들은 대부분 정제하지 않고 그대로 사용하였다. Trifluoroacetaldehyde와 difluoroacetaldehyde는 각각의 산으로부터 lithium aluminium hydride(LAH)로 환원시켜 정제하지 않고 사용하였다.

3번 위치의 치환기로는 trifluoromethyl기를 우선 선택하였으나 이 화합물이 동물실험에서 독성을 나타냈으므로 대신에 difluoromethyl과 electron withdrawing group이 치환되어 있는 페닐기를 도입하고자 하였다. 이 때 페닐치환기로는 각각 2-, 3-, 4- 위치의 fluoro, chloro, nitro 그리고 tri-

fluoromethyl 등을 택하였다. 이렇게 얻어진 5-aminoisoxazole 유도체들을 다음의 Table I에 표시하였다. 3단계 반응에서 대부분 40% 내외의 유용한 수율로 합성되었다. 각각의 ester들을 base condition 하에서 가수분해하여 isoxazole carboxylic acid를 얻었다. 이 때 사용한 base로는 KOH나 NaOH, NaHCO₃, K₂CO₃ 등과 triethylamine 등의 amine류를 사용하였고, 용매로는 methanol, ethanol 등의 alcohol류나 증류수 등을 사용하였다. 화합물에 따라서는 반응온도가 높거나 장시간 반응을 시키는 경우에 가수분해 반응이 일어난 후에 decarboxylation까지 진행되어 decarboxylated compound를 부산물로 얻는 경우도 있었다.

한편 일반적으로 소염진통효과를 나타내는 화합물들은 4번위치의 carboxyl기가 ester 형태보다는 acid나 amide의 구조를 갖고 있다. 이는 Ibuprofen이나 Indomethacin 등의 arylalkanoic acid계 NSAID 뿐만 아니라 Piroxicam, Isoxicam 또는 Tenoxicam 등의 oxicam 계열의 소염진통제 등에서도 볼 수 있다. 따라서 isoxazole 유도체들도 free acid나 여기에 적당한 acylation 반응을 통하여 amide 형태의 화합물로의 분자구조변환을 시도하였다.

5번 위치의 acylation은 p-nitrobenzoylchloride를 triethylamine/4-dimethylaminopyridine(DMAP) 조건하에서 dichloromethane 용매 중에서 반응시켜 amidoester 7을 68%의 수율로 얻었다.⁴⁾ 다음으로 앞에서 얻은 N-p-nitrobenzoylamino ester 7의 ester를 amide 형태로 변화시키고자 하였다.⁵⁾ 이 때 사용한 amine들은 다른 소염진통제들에서 흔히 볼 수 있는 2-amino-pyridine, 2-amino-3-hydroxypyridine, 4-chlor-

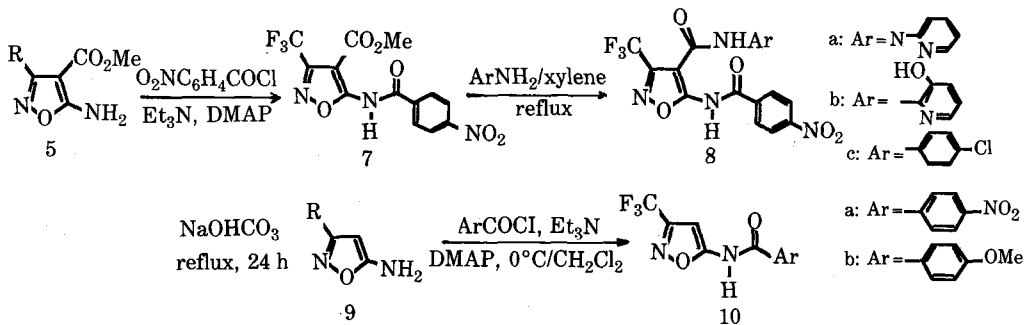


Scheme I

Table 1—Synthesis of 5-Aminoisoxazoles

Entry	R	Ester ^a (%)	Acid ^b (%)	Entry	R	Ester ^a (%)	Acid ^b (%)
a	CF ₃	30 ^c	100	i	3-FC ₆ H ₄	45	23
b	CHF ₂	18 ^c	73	j	4-FC ₆ H ₄	33	21
c	Ph	29	-	k	2-CF ₃ C ₆ H ₄	41	26
d	4-MeOC ₆ H ₄	48	-	l	3-CF ₃ C ₆ H ₄	-	-
e	2-ClC ₆ H ₄	39	16	m	4-CF ₃ C ₆ H ₄	47	57
f	3-ClC ₆ H ₄	32	-	n	2-O ₂ NC ₆ H ₄	28	-
g	4-ClC ₆ H ₄	32	16	o	3-O ₂ NC ₆ H ₄	36	41
h	2-FC ₆ H ₄	36	20	p	4-O ₂ NC ₆ H ₄	27	41

^a: overall yields of purified products from aldehydes, ^b: yields from esters, ^c: overall yield from corresponding acid.



Scheme II

oaniline 등을 ester와 *o*-xylene에서 환류시켜 amide를 합성하였다. 이 경우에 amide 8을 60~70%의 수율로 얻었지만 2-amino-3-chloropyridine의 경우에는 같은 조건에서 반응이 진행되지 않았다.

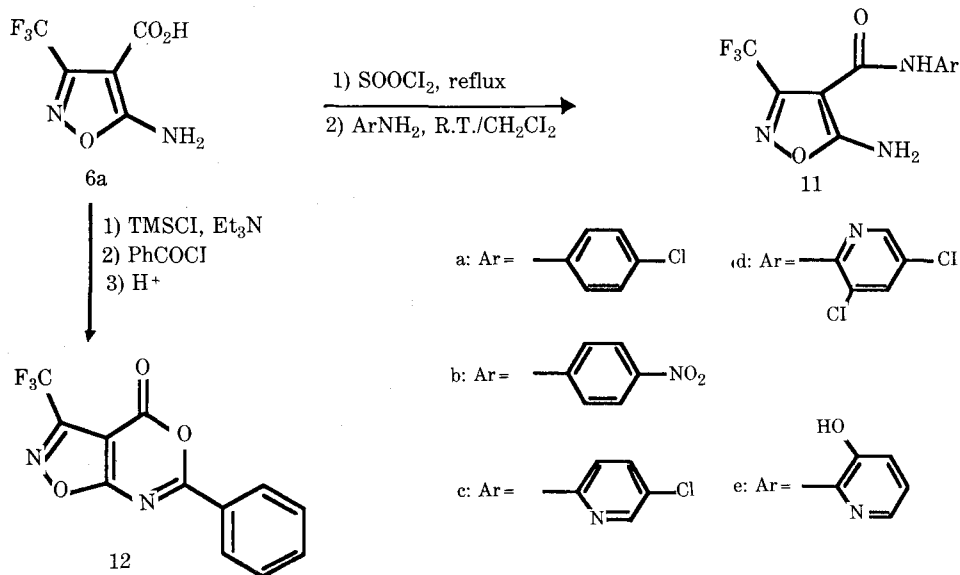
전술한 바와 같이 ester의 가수분해에서 decarboxylation이 쉽게 일어나는 것을 이용하여 aminoisoxazole을 얻었다. 즉 ester 5a를 장시간 가열하면 높은 수율로 amine 9이 얻어진다.⁴⁾ 여기에 acylation을 시켜 amide 10을 제조하였다. Acyl기로는 전자적 특성이 서로 반대인 *p*-nitrobenzoyl과 *p*-methoxybenzoyl을 사용하였다.

다음으로는 aminoisoxazole carboxylic acid 6a를 carboxamide로 바꾸었다. Acid를 thionyl chloride와 반응시켜 acid chloride를 얻고 이것을 amine과 반응시켜 aminoisoxazole carboxamide 11을 얻었다. 이 때 사용한 amine으로는 aniline과 aminopyridine 유도체들이었다(Scheme 3).

Acid 8a의 amino기만 acylation하고자 하여 6a의 acid를 TMSCl을 사용하여 보호한 뒤 benzoyl chloride와 반응시켰더니 반응이 한단계 더 진행되어, 즉 cyclization에 이은 탈수반응이 일어나서 lactone 형태의 oxazine 화합물 12를 얻었다.⁶⁾

Isoxazolidinone carboxylate의⁷⁾ 경우에는 5-aminoisoxazole의 경우와 유사한 방법으로 합성할 수 있었다. 다만 cyclocondensation 반응시 cyanoacetate 대신에 malonate를 이용하였다. 즉 diethyl sodiomalonate의 EtOH 용액에 bromo-oxime의 EtOH 용액을 5°C 이하에서 서서히 적가하고 다시 상온에서 약 3시간 동안 반응시켜 합성하였다.

Isoxazolidinone acetate는⁷⁾ acetylsuccinate를 THF 용매 중에서 hydroxylamine과 0°C에서 축합시켜 약 40%의 수율로 isoxazolidinone acetate를 합성하였다.⁸⁾



Scheme III

약효의 검색

본 연구에서 합성된 화합물들 중 26개에 대하여 1차 screening으로 소염효과를 보기 위해 antiedema test를,⁹⁾ 진통효과를 보기 위해 acetic acid writhing test를¹⁰⁾ 각각 다음과 같이 실시하였다. Antiedema test는 SD female rat(체중 160~180g)의 오른쪽 뒷발바닥에 1% carrageenin 0.1 ml를 피하주사하여 생성된 부종의 크기가 시험약물의 투여에 따라 변화하는 것을 측정하였고, acetic acid writhing test는 ICR male mouse(체중 20~25g)에 0.7% 초산용액을 복강내에 주사한 후 시험약물의 투여에 따른 writhing syndrome 횟수의 변화를 측정하였다. 그 실험결과의 일부를 다음 Tabel II에 표시하였다.

Isoxazole 유도체들 중에서도 특히 3번 위치에 trifluoromethyl기가 치환된 화합물들이 강력한 활성을 나타냈지만 이들 화합물들 중에는 실험동물에 심한 독성을 나타내는 경향이 있었다. 특히 화합물 9는 소염효과가 상당히 우수한 화합물로 antiedema test에서 ED₅₀이 8.24 mg/kg으로 oxicam 계열의 화합물들에는 미치지 못하나 Aspirin이나 Ibuprofen 보다는 우수한 약효를 나타냈다. 이 화합물의 진통효과는 ED₅₀이 128 mg/kg으로 비교약물인 Aspirin이나 Ibuprofen, Naproxen 등과 비

Table 2—Test of Biological Activity

Compound	Antiedema Test	Writhing Test
5a	ED ₃₀ = 26.7 mg/kg	ED ₃₀ = 26.7 mg/kg
8a	effective	161 mg/kg
10b	19.2 mg/kg	effective
5n	effective	effective
9	8.2 mg/kg	128 mg/kg
Aspirin	25 mg/kg	100 mg/kg
Ibuprofen	4.4 mg/kg	143 mg/kg
Naproxen	10.7 mg/kg	95.4 mg/kg

슷한 효과를 나타냈다.

이상의 isoxazole 유도체의 합성 및 동물실험을 통하여 isoxazole 유도체들 중에는 소염진통제로서의 강력한 활성을 갖는 화합물들이 있어, 앞으로의 신규 소염진통제 개발에 있어서 isoxazole이 중요한 “LEAD” 화합물이 될 가능성을 확인하였다. 특히 화합물 5a은 소염효과가 상당히 우수한 화합물로 oxicam 계열의 화합물들에는 미치지 못하나 Aspirin이나 Ibuprofen 보다는 우수한 약효를 나타냈다. 이 화합물의 진통효과는 비교약물인 Aspirin이나 Ibuprofen, Naproxen 등과 비슷하였다.

따라서 앞으로의 연구방향은 최근에 개발되어 우수한 약효를 보이고 있는 Piroxicam이나 Tenox-

icam 등과 같은 oxicam 구조로의 분자구조 변환, 즉 isoxazole 구조와 oxicam 구조를 혼합시킨 새로운 형태의 소염진통제 개발에도 노력하여야 하리라 사료된다. 아울러 isoxazole 이외에 또다른 heteroaromatic 구조와 thiazine 구조의 조합과, 여기에 생리활성을 갖는 heteroaromatic 화합물을 amide로 결합시킨 구조의 화합물 합성에도 노력하여야 한다고 생각된다.

실험부

본 연구에서 사용한 시약들은 Aldrich 사나 Fluka, Janssen, Alfa, Tokyo Kasei 그리고 동양 화학 등의 전문시약회사 제품을 대부분 정제하지 않고 사용하였다. 반응용매들은 대부분 1급 이상의 순도를 지닌 것을 사용하였으며, 무수상태의 용매를 필요로 하는 경우에는 표준방법에 의하여 건조 또는 증류하여 사용하였다. 용점은 Electrothermal 사의 Digital Melting Point Apparatus 를 이용하여 측정하였고 온도보정은 하지 않았다. 그외에 IR 은 Shimadzu model 435, NMR 은 Varian F-80A, Varian EM-360A, Bruker 300 그리고 MS 는 Shimadzu QP-1000, JEOL/SVC 을 사용하였다.

Methyl-5-(4-nitrobenzoylamino)-3-trifluoromethylisoxazole-4-carboxylate(7)-Amine 5a 5.0g(23.8 mmol)을 CH_2Cl_2 100 ml 에 현탁시킨 후 Et_3N 5 ml 을 넣어 맑은 용액이 될 때까지 교반하였다. 이 반응혼합물에 4-nitrobenzoyl chloride 5g 의 CH_2Cl_2 용액 10 ml 을 서서히 적가한 다음 약 30분간 교반하고, 여기에 DMAP 0.5g 의 CH_2Cl_2 용액 10 ml 을 가한 후 철야교반하였다. 반응혼합물을 감압하에서 농축시켜 남은 잔사를 column chromatography 로 정제하여 5.8g(68%)의 미황색 침상결정을 얻었다. mp. 156~157°C : NMR(CDCl_3) δ 3.93(s, 3H), 7.93~8.50(m, 4H), 7.80(b, 1H) : IR 3300, 1715, 1680, 1610 cm^{-1} .

5-(4-Nitrobenzoylamido)-3-trifluoromethylisoxazole-4-(2-pyridinyl)carboxamide(8a)-Amide 7 0.33g(0.92 mmol)과 2-aminopyridine 0.13g(1.37 mmol)의 *o*-xylene 20 ml 용액을 철야 환류교반한 후 반응혼합물을 상온으로 냉각시키고 여기에 hexane 20 ml 를 가하여 생성된 침전물을

여과, 건조시켜 0.23g(59%)의 미황색 결정을 얻었다. mp. 238~240°C : NMR($\text{DMSO}-d_6$) δ 3.20(s, 1H), 6.81~8.12(m, 4H), 8.20(s, 4H), 10.92(b, 1H).

5-(4-Nitrobenzoylamido)-3-trifluoromethylisoxazole-4-[2-(3-hydroxy)pyridinyl]carboxamide(8b)-Amide 7 0.5g(1.39 mmol)과 2-amino-3-hydroxypyridine 0.2g(1.6 mmol)으로부터 위와 같은 방법으로 0.4g(67%)의 녹색결정을 얻었다. mp. 206~207°C : NMR($\text{DMSO}-d_6$) δ 7.05~7.40(m, 2H), 7.80~8.02(m, 1H), 8.50(s, 4H) : IR 3200, 1650, 1600, 1505, 1440 cm^{-1} .

2-Phenyl-5-trifluoromethyl-1,3-oxazin-6-one-[4,5-d]-isoxazole(12)-Acid 6a 1.0g(5.1 mmole)을 CH_2Cl_2 10 ml 에 현탁시키고 1.1 ml 의 Et_3N 을 가하여 맑은 용액이 될 때까지 교반하였다. 반응물을 5°C 이하로 냉각시키고 0.8 ml(6.2 mmole)의 TMSCl 을 가한 후 반응혼합물을 30°C 까지 가온하여 1시간 동안 교반하였다. 다시 반응혼합물을 5°C 이하로 냉각시킨 후 1.1 ml 의 Et_3N 과 0.7 ml(6.1 mmole)의 benzoyl chloride 를 가하고 서서히 반응온도를 상온까지 올려 1시간 동안 교반하였다. 감압하에서 용매를 제거하고 남은 잔사를 column chromatography 로 정제하여 0.54g(38%)의 백색결정을 얻었다. mp. 162~164°C : NMR(CDCl_3) δ 7.30~8.92(m, 5H) : IR 1780, 1720, 1580, 1500 cm^{-1} .

5-(4-Nitrobenzoylamido)-3-trifluoromethylisoxazole(10a)-Amine 9 1.0g(6.6 mmole)을 7 과 같은 방법으로 반응시키고 column chromatography 로 정제하여 1.6g(81%)의 미황색결정을 얻었다. mp. 192~193°C : NMR(CDCl_3) δ 6.70(s, 1H), 8.20(s, 4H) : IR 3200, 1685, 1617, 1510, 1490 cm^{-1} .

Methyl 5-amino-3-difluoromethylisoxazole-4-carboxylate(5b)-Et₂O 100 ml 에 LAH 1.0g 을 -65°C 이하에서 현탁시키고 difluoroacetic acid 3.3 ml 의 Et_2O 20 ml 용액을 약 30분간에 걸쳐서 적하시켰다. 같은 온도에서 2시간 반응시킨 후 온도를 0°C 까지 올리고 MeOH 5 ml, 증류수 5 ml, 진한 황산 5 ml 를 차례로 가하여 생성된 침전물을 여과하여 제거한다. 여액을 50 ml 씩의 Et_2O 로 3

번 추출한 유기층을 30 ml의 물로 세척하고 건조 (MgSO₄)시킨 후 용매를 날려 약 5 ml의 aldehyde를 etherate로 얻었다. Hydroxylamine hydrochloride 3.6g의 물 20 ml 용액에 Na₂CO₃ 2.7g을 가해서 중화시켰다. 여기에서 앞에서 얻은 difluoroacetaldehyde etherate의 20 m/MeOH 용액을 30분에 걸쳐 적가한 후 상온에서 8시간 동안 교반하였다. 반응 혼합물을 50 ml 씩의 Et₂O로 2회 추출하고, 유기층을 물 30 ml로 세척한 후 건조 (MgSO₄)시키고 용매를 날려 4.6g의 aldoxime을 얻었다.

Difluoroacetaldoxime 4.6g의 20 ml DMF 용액에 NBS 8.6g의 25 ml DMF 용액을 -50°C에서 -45°C를 유지하면서 약 1시간 동안 적가하였다. 이것을 -30°C 이하에서 2시간 동안 반응시킨 후 온도를 0°C까지 올렸다. 여기에 물 50 ml를 가하고 100 ml 씩의 Et₂O로 2회 추출하고 유기층을 50 ml의 물로 세척한 후, 건조 (MgSO₄)시키고, 용매를 날려 4.9g의 bromooxime을 얻었다.

Methyl cyanoacetate 5.0 ml의 30 ml MeOH 용액에 빙욕 중에서 NaOMe 3.0g을 가하여 맑은 용액이 될 때까지 교반하였다. 여기에 bromooxime 4.9g의 20 ml MeOH 용액을 1시간에 걸쳐서 적가하고, 2시간 동안 반응시켰다. 용매를 날리고 물 50 ml를 가하여 석출되는 결정을 여과하고 물로 세척한 후 진공건조시켜 1.1g(18%)의 ester **5b**를 베이지색 결정으로 얻었다. mp. 123~124°C : NMR(CDCl₃-DMSO-*d*₆) δ 3.80(s, 3H), 6.84(t, J=2 Hz, 1H), 7.55(br. s, 2H) : IR(KBr) 3420, 3320, 1690, 1555 cm⁻¹ : MS m/e 192(M⁺).

5-Amino-3-difluoromethylisoxazole-4-carboxylic acid(6b)-Ester **5b** 0.8g과 Na₂CO₃ 0.7g을 물-MeOH(1:1) 혼합액 40 ml에 녹이고, 이 혼합물을 15시간 동안 환류시켰다. 여기에 40 ml의 Et₂O를 가하여 세척한 후 수층을 진한 황산으로 pH 6이 되게 중화한 후 50 ml의 Et₂O로 2회 추출하고, 유기층을 다시 소량의 물로 세척한 후 건조 (MgSO₄)시키고, 용매를 날려서 0.54g(73%)의 황색결정을 얻었다. mp. 196~198°C : NMR(CDCl₃) δ 6.88(t, J=2 Hz, 1H), 7.41(br. s, 2H), 9.84(br. s, 1H) : IR(KBr) 3440, 3270, 1685, 1615, 1555 cm⁻¹ : MS m/e 178(M⁺).

Methyl 5-Amino-3-(2-fluorophenyl)isoxazole-4-carboxylate(5h), 36% overall). mp. 102~104°C : NMR(CDCl₃-DMSO-*d*₆) δ 3.40(s, 3H), 6.71~7.60(m, 6H) : MS m/e 236(M⁺) : IR(KBr) 3400, 3250, 3200, 1680, 1650 cm⁻¹.

5-Amino-3-(2-fluorophenyl)isoxazole-4-carboxylic acid(6h), 20%). mp. 163~165°C : NMR(acetone-*d*₆) δ 6.90~7.61(m, 4H), 5.10(br. s, 2H) : MS m/e 222(M⁺).

3-Fluorobenzaldoxime(2i). mp. 63~64°C : NMR(acetone-*d*₆) δ 6.82~7.50(m, 4H), 8.21(s, 1H), 10.02(br. s, 1H) : MS m/e 139(M⁺).

Methyl 5-Amino-3-(3-fluorophenyl)isoxazole-4-carboxylate(5i), 45% overall). mp. 150~151°C : NMR(CDCl₃-DMSO-*d*₆) δ 3.60(s, 3H), 7.20~7.82(m, 6H) : IR 3400, 3250, 3200, 1680, 1640 cm⁻¹ : MS m/e 236(M⁺).

5-Amino-3-(3-fluorophenyl)isoxazole-4-carboxylic acid(6i), 23%). mp. 117~119°C : MS m/e 222(M⁺).

Methyl 5-Amino-3-(4-fluorophenyl)isoxazole-4-carboxylate(5j), 33% overall). mp. 151~152°C : NMR(acetone-*d*₆) δ 3.60(s, 3H), 6.92~7.80(m, 6H) : MS m/e 236(M⁺).

5-Amino-3-(4-fluorophenyl)isoxazole-4-carboxylic acid(6j), 21%). mp. 176~178°C : NMR(acetone-*d*₆) δ 3.80(br. s, 2H), 6.90~7.82(m, 4H) : MS m/e 222(M⁺).

Methyl 5-Amino-3-(2-chlorophenyl)isoxazole-4-carboxylate(5e), 32% overall). mp. 142~143°C : NMR(acetone-*d*₆) δ 3.62(s, 3H), 7.1~7.7(m, 6H) : MS m/e 252(M⁺).

5-Amino-3-(2-chlorophenyl)isoxazole-4-carboxylic acid(6e), 16%). mp. 167~169°C : NMR(acetone-*d*₆) δ 3.82(b, 2H), 7.30~7.70(q, 4H) : MS m/e 239(M⁺).

Methyl 5-Amino-3-(4-chlorophenyl)isoxazole-4-carboxylate(5g), 32% overall). mp. 176~177°C : NMR(acetone-*d*₆) δ 3.60(s, 3H), 7.12~7.70(m, 6H) : MS m/e 252(M⁺).

5-Amino-3-(4-chlorophenyl)isoxazole-4-carboxylic acid(6g), 16%). mp. 216~218°C : NMR

(acetone- d_6) δ 3.80 (b, 2H), 7.30~7.70 (q, 4H) : MS m/e 238 (M^+).

2-Nitrobenzaldoxime (2n). mp. 99~100°C : NMR ($CDCl_3$ -DMSO- d_6) δ 7.20~7.90 (m, 4H), 8.50 (s, 1H), 10.72 (s, 1H) : MS m/e 167 ($M^+ + 1$).

Methyl 5-amino-3-(2-nitrophenyl)isoxazole-4-carboxylate (5n, 28% overall). mp. 188~190°C : NMR ($CDCl_3$ -DMSO- d_6) δ 3.50 (s, 3H), 7.60 (m, 4H), 8.02 (b, 2H) : MS m/e 263 (M^+).

3-Nitrobenzaldoxime (2o). mp. 119~120°C : NMR ($CDCl_3$ -DMSO- d_6) δ 7.3~8.2 (m, 4H), 8.40 (s, 1H), 10.41 (s, 1H) : MS m/e 166 (M^+).

3-Nitrobenzaldoximoyl Bromide (3o). mp. 194~196°C : NMR (acetone- d_6) δ 7.5~8.3 (m, 4H), 8.52 (s, 1H).

Methyl 5-Amino-3-(3-nitrophenyl)isoxazole-4-carboxylate (5o, 37% overall). mp. 194~196°C : NMR (DMSO- d_6) δ 3.61 (s, 3H), 7.4~8.4 (m, 6H) : MS m/e 263 (M^+).

5-Amino-3-(3-nitrophenyl)isoxazole-4-carboxylic acid (6o) Ester **5o** 2.6g (0.01 mole)과 KOH 0.7g을 MeOH 50 ml와 증류수 5 ml의 혼합용매에 녹인 후 3시간 동안 환류하였다. 반응혼합물을 감압하에서 농축시키고 여기에 증류수 50 ml를 가한 후 10% 염산용액으로 pH 3이 되게 액성을 조정하였다. 이를 Et_2O 50 ml로 2회 추출하고 건조 ($MgSO_4$)시킨 후 용매를 제거하여 1.0g (41%)의 결정을 얻었다. mp. 151~153°C : NMR ($CDCl_3$ -DMSO- d_6) δ 7.01~8.50 (m, 6H).

5-Amino-3-(4-nitrophenyl)isoxazole-4-carboxylic acid (6p)-Hydroxylamine hydrochloride 4.6g의 30 ml 수용액에 Na_2CO_3 3.5g을 가하여 중화시키고 10.0g의 4-nitrobenzaldehyde와 100 ml의 MeOH을 가한 후 상온에서 30분간 교반시킨 다음 200 ml의 증류수를 가하여 생성된 침전을 여과, 건조시켜 8.3g (76%)의 oxime **2p**을 황색 결정으로 얻었다 (mp. 94~95°C).

Oxime **2p** 6.0g의 30 ml DMF 용액에 빙옥 중에서 NBS 6.75g의 30 ml DMF 용액을 1시간에 걸쳐 적가하고 1시간 동안 더 교반시켰다. 생성된 침전을 여과하고, 여액에 증류수 100 ml의 Et_2O 로 2회 추출하였다. Et_2O 용액을 50 ml의 증류수로

세척한 후 건조 ($MgSO_4$)시키고 용매를 날려서 4.7g (53%)의 bromooxime **3p**을 황색결정으로 얻었다.

Methyl cyanoacetate 3.2 ml의 20 ml MeOH 용액에 1.8g의 NaOMe를 가하여 맑은 용액이 될 때까지 교반하였다. 여기에 앞에서 얻은 bromooxime **3p** 4.0g의 30 ml MeOH 용액을 30분에 걸쳐서 빙옥 중에서 적하시키고 1시간 동안 더 교반시켰다. 이 반응혼합물을 용매를 날리고, 100 ml의 증류수를 가하여 생성되는 침전물을 여과하여 $EtOAc$ 200 ml에서 활성탄으로 탈색시켜 2.9g (66%)의 ester **5p**을 황색결정으로 얻었다. mp. 213~215°C : NMR (acetone- d_6) δ 3.66 (s, 3H), 7.65 (br. s, 2H), 7.72~8.27 (dd, $J=10$ Hz, 4H) : IR (KBr) 3450, 3310, 1695, 1640, 1520 cm^{-1} : MS m/e 263 (M^+).

Ester **5p** 2.0g과 KOH 0.5g을 MeOH-물 (1 : 1) 혼합용매에 녹이고 50~60°C에서 24시간 동안 교반시켰다. 반응 혼합물을 10 ml의 Et_2O 로 세척하고, 진한염산으로 pH 3~4로 조정한 후 50 ml의 Et_2O 로 2회 추출하여 건조 ($MgSO_4$)한 뒤, 용매를 날려서 0.8g (41%)을 황색결정으로 얻었다. mp. 184~196°C : NMR ($CDCl_3$) δ 6.50 (br. s, 2H), 7.74~8.24 (dd, $J=12$ Hz, 4H) : MS m/e 249 ($M^+ + 1$).

Methyl 5-Amino-3-(2-trifluoromethylphenyl)isoxazole-4-carboxylate (5k, 63% overall). mp. 194~196°C : NMR (acetone- d_6) δ 3.50 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 7.01~7.80 (m, 6H) : MS m/e 286 (M^+).

5-Amino-3-(2-trifluoromethylphenyl)isoxazole-4-carboxylic acid (8k, 26%). mp. 205~207°C : NMR ($CDCl_3$ -DMSO- d_6) δ 7.21~7.70 (m, 6H), 8.30~9.42 (b, 1H) : MS m/e 272 (M^+).

4-Trifluoromethylbenzaldoxime (2m, 93%). mp. 91~93°C : NMR ($CDCl_3$ -DMSO- d_6) δ 7.62 (s, 4H), 8.10 (s, 1H), 10.34 (s, 1H) : IR (KBr) 3250, 1620, 1320 cm^{-1} : MS m/e 189 (M^+).

5-Amino-3-(4-trifluoromethylphenyl)isoxazole-4-carboxylate (5m, 49%). mp. 160~161°C : NMR ($CDCl_3$ -DMSO- d_6) δ 3.70 (s, 3H), 7.42 (br. s, 2H), 7.68 (s, 4H) : IR (KBr) 3430, 3310, 1680, 1540 cm^{-1} : MS m/e 286 (M^+).

5-Amino-3-(4-trifluoromethylphenyl)isoxazole-4-carboxylic acid (8m, 57%). mp. 136~138°C : NMR(CDCl₃) δ 7.27 (br. s, 2H), 7.54~7.85 (dd, J=8 Hz, 4H), 8.05 (br. s, 1H) : IR(KBr) 3480, 2860, 2500, 1685, 1620, 1525 cm⁻¹ : MS m/e 272 (M⁺).

5-Amino-3-phenylisoxazole-4-carboxylate (5c, 29% overall). mp. 145~146°C : MS m/e 218 (M⁺) : NMR(DMSO-d₆) δ 3.61 (s, 3H), 7.12~7.50 (m, 4H).

Methyl 5-amino-3-(4-methoxyphenyl)isoxazole-4-carboxylate (5d, 48% overall). mp. 137~139°C : NMR(acetone-d₆) δ 3.60 (s, 3H), 3.72 (s, 3H), 6.60~7.62 (m, 6H) : MS m/e 248 (M⁺).

감사의 말씀

본 연구는 과기처의 특정연구과제로 수행되었으며 약효검색을 위해 수고해주신 본 연구소 의약활성연구실의 김은주, 이부연, 김재홍께 감사드립니다.

문 헌

A portion of this work was presented at the 64th Annual Meeting of the Korean Chemical Society, October 20-21, Daegu.

- 1) T.J. Carty, A. Marfat and H. Masamune, *Ann. Rep. In Med. Chem.*, **23**, 181 (1988).
- 2) For general biological activities of isoxazoles, see S.A. Lang, Jr. and Y.-I. Lin, "4.16. Isoxazoles and their Derivatives" in *Comprehensive Heterocyclic Chemistry* vol. 6, A.R. Katritzky, C.R. Rees eds. pp. 127-130. Pergamon Press (1984, New York) and references cited therein.
- 3) For general synthesis of isoxazoles, see *idem. ibid.*, pp. 61-68. 4) K. Tanaka, T. Suzuki, S. Maeno and K. Mitsuhashi, *J. Heterocycl. Chem.*, **23**, 1535 (1986).
- 5) Isothiazole diamide 의 소염진통효과가 보고된 바 있다. J. Kolwas *Drugs of the Future*, **6**, 475 (1981).
- 6) For a similar reaction, see Ref. 4.
- 7) For general synthesis of isoxazolidones, see Ref. 2, pp. 103-105.
- 8) P. Krogsgaard-Larsen, S.B. Christensen and H. Hjeds, *Acta Chem. Scan.*, **27**, 2802 (1972).
- 9) C.A. Winter, E.A. Risley and G.W. Nuss, *Proc. Exp. Biol. Med.*, **111**, 544 (1962).
- 10) K. Tanaka, H. Masuda and K. Mitsuhashi, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **57**, 2184 (1984).
- 11) R. Kostar, M. Anderson and E.J. Dobber, *Fed. Proc.*, **22**, 248 (1963).
- 12) E. Arigoni-Martelli, *Drugs of the Future*, **7**, 493 (1982).