

## 5-Fluorouracil 유도체 합성 및 항암작용

이희주# 신혜순 · 진현숙 · 김지현 · 김종국\*

덕성여자대학교 약학대학, \*서울대학교 약학대학

(Received November 20, 1993)

### Synthesis and Antitumor Activity of N<sup>1</sup>-derivatives of 5-Fluorouracil

Hee Joo Lee, Hae Soon Shin, Hyun Suk Jin, Ji Hyun Kim and Chong Kook Kim\*

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

\*College of Pharmacy, Seoul National University, Seoul 151-742, Korea

**Abstract**—In order to find out a proper connecting bridge between 5-fluorouracil(5-FU) and a macromolecule such as a polypeptide, potentially hydrolytic N<sup>1</sup>-derivatives of 5-FU have been synthesized and evaluated for their biological activity. When tested with in vitro leukemic L<sub>1210</sub> cells all the obtained derivatives exhibited slightly higher antitumor activity than the parent 5-FU. Among them the N<sup>1</sup>-carbamoyl analogue **2** and N<sup>1</sup>-acetamido analogue **6b** showed 50% inhibition of the L<sub>1210</sub> cell growth at the concentrations of  $5.01 \times 10^{-8}$  M and  $1.03 \times 10^{-7}$  M, respectively. When tested against sarcoma 180 tumor cells inoculated into mice, the compounds **2** and **6b** exhibited, respectively, 62% and 54% inhibition of the solid tumor growth at the 5-time doses of 100 mg/kg/day. Both compounds, N<sup>1</sup>-carbamoyl analogue **2** and N<sup>1</sup>-acetamido analogue **6b**, released the parent 5-FU when incubated in the L<sub>1210</sub> cell cultural media for 5 hrs.

**Keywords** □ 5-Fluorouracil-N<sup>1</sup>-derivatives, antitumor activity, leukemia L<sub>1210</sub> cells, and sarcoma 180 tumor cells.

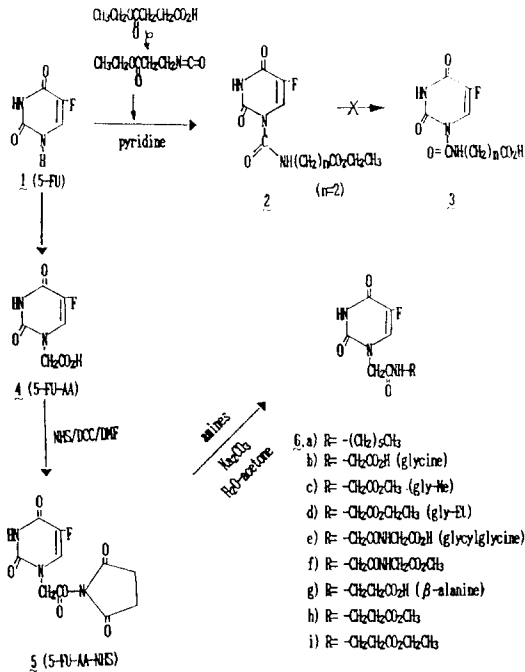
핵산구성 염기중 하나인 pyrimidine 유사체 5-fluorouracil(**1**, 5-FU)이 위·장관암·유방암 및 기타 선암과 고형암에 치료제로 널리 쓰이고 있으나 생체내 전신적인 독성이 크며 반감기가 짧아( $t_{1/2}$  10 min 전후) 일반적으로 혈관내로 오랜시간에 걸쳐 투여되고 있다.<sup>1)</sup> 본 연구팀은 이런 5-FU의 생체내 분포의 선택성 및 효과의 지속성을 높여보기 위하여, 체내 이동에 선택성을 보이는 운반체들(예 polypeptides 또는 합성 중합체)<sup>2-5)</sup>에 모약을 적절히 유리시켜 줄 수 있는 형태로 5-FU를 결합시켜 보다 항암성 효율이 높은 약물로 얻어보고자 연구를 진행하여 왔다.<sup>6,7)</sup> 이번 연구에서는 고분자 물질에 5-FU를 결합시키기 위한 연결고리 연구로 보다 용이하게 모5-FU가 분해유리될 수 있는 화학결합형태<sup>8)</sup>와 또 한편 5-FU가 고분자

집단으로부터 충분히 자유로이 놓이므로 어떤 분해 효소에 접하는 것이 용이한 결합형태를 고려하며<sup>2)</sup> 일련의 5-FU 유도체를 합성하였다(Scheme 1). 그런데 이 유도체 자체들이 좋은 항암성 작용을 나타내어 보고하는 바이다.

#### 실험방법

**시약 및 재료**—Sigma Chemical Co.로부터 화합물 5-fluorouracil, glycine, glycyglycine, β-alanine, succinic anhydride, sodium azide, N,N'-dicyclohexylcarbodiimide(DCC), N-hydroxysuccinimide(NHS) 등을 구입하였다. Merck Co.로부터 TLC를 위해 silica gel 60 F-254를 구입하여 사용하였다. L<sub>1210</sub> 세포 배양을 위하여 GIBCO Co.로부터 Fisher's medium powder, sodium carbonate(조식배양용), penicillin-streptomycin

#본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로.



Scheme 1

cin액 및 horse serum 등을 구입하여 배지를 만들었고, 검체 용매로는 Merck Co.의 DMSO를 사용하였다. 기타 시약 및 용매는 시판 일급 또는 특급시약을 사용하였다.

**사용기기**—화합물 분석을 위하여 mp 측정기로 Büchi 535(Switzerland)를 사용하였다. IR spectra는 Perkin-Elmer 1310 spectrophotometer으로부터, NMR spectra는 Varian EM 360L spectrometer으로부터 얻었다. UV data는 Hewlett Packard 8452A spectrophotometer를 써서 얻고, HPLC 분석은 Waters Chromatography( $\mu$  Bondapak-C<sub>18</sub> column)를 사용하였다. 세포배양기구는 Vision Scientific Co.의 CO<sub>2</sub>-incubator를 쓰고, 세포수 증식 count는 Olympus Co.의 100배 배율의 현미경을 쓰고, 정제수는 Waters의 Milli-Q™ Water System으로부터 얻어 썼다.

**암세포 분양 및 실험동물 구입**—*In vitro* 실험을 위한 leukemia L<sub>1210</sub> cell을 서울대학교 암연구소로부터 분양하여 왔으며, 고형암세포인 sarcoma 180은 서울대학교 약학대학으로부터 분양하여 이용하였다. ICR 마우스는 서울대학교 실험동물 사육장에서 공급받았다.

### 1-(Ethoxycarbonylethylcarbamoyl)-5-fluorouracil(2)

**의 합성**—보고된 방법을 활용하며<sup>9)</sup> 먼저 succinic acid monoethyl ester의 acid기를 acid chloride 및 acylazide를 거쳐 isocyanate기(IR흡수 2260 cm<sup>-1</sup>로 확인)로 전향하였다. 얻어진 isocyanate와 5-FU를 2 : 1의 비로 하여 pyridine 용매에서 90~100°C로 2시간 가열하여 축합하였다. Pyridine 용매제거 후에 EtOH을 넣어 상온에서 얻어진 침전(TLC상에서 UV로 확인되지 않는 물질로 축합물질이 아닌 부산물로 봄)을 여과제거하고, 모액을 농축, 냉시에 얻어지는 결정을 모았다. EtOH 용매에서 재결정하여 수율 60%의 백색침전 1-(ethoxycarbonyl-ethylcarbamoyl)-5-fluorouracil(2)을 얻었고, 화합물의 NMR spectrum 특성은 문헌과 같았다(mp 149~151°C, lit. mp 151~153°C).<sup>10)</sup>

### 5-FU-1-acetyl-amino acid 결합체들(6a, c, d, g, h)의 일반적인 합성법

—보고된 방법과 같이<sup>6)</sup> 5-FU의 N<sup>1</sup> 위치에 chloroacetic acid를 결합시켜 5-FU-1-acetic acid(5-FU-AA, 4, mp 272~274°C)를 얻었고, 이어 acid기를 N-hydroxysuccinimide(NHS)로 활성화 ester기로 바꾼 5-FU-AA-NHS ester(5)를 얻어 각 반응에 활용하였다. 즉 acetone-물(약 1 : 1) 혼합용액에 해당 amine 또는 amino acid ester를 녹이고 냉조에서 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>를 써서 용액을 pH 8로 조정하며 앞서 얻은 5-FU-AA-NHS ester를 서서히 가하여 주었다. 5-FU-AA-NHS를 amine류에 1 : 1.2 정도의 비로 가해주고, 냉조에서 2시간 반응시킨 후 반응액을 ether로 씻고 나서 EtOAc를 써서 2회 추출하였다. EtOAc층을 모아 용매제거 후 EtOH-EtOAc 용매를 써서 결정화하여 아래 화합물들을 수율 50% 전후하여 얻었다. 각 화합물의 특성은 Table I과 같다. 5-Fluorouracil-1-(N-hexyl)acetamide(6a), 6-Fluorouracil-1-acetyl-glycine methyl ester(6c), 6-Fluorouracil-1-acetyl-glycine ethyl ester(6d), 5-Fluorouracil-1-acetyl-glycylglycine methyl ester(6f), 5-Fluorouracil-1-acetyl- $\beta$ -alanine methyl ester(6h), 5-Fluorouracil-1-acetyl- $\beta$ -alanine ethyl ester(6i).

### 5-FU-1-acetyl-amino acid 결합체들(6b, e, g)의 일반적인 합성법

—전반적인 과정은 상기와 유사하나 5-FU-AA-NHS ester와 amino acid를 결합시킨 후, 반응액을 ether로 씻고 난 후, 수용액을 HCl을 써서 pH 2로 조정한 후 냉조고에 1일 이상 방치하여 결정성 침상으로 결합체들을 얻었다. 결합체들은 수용성이

**Table I**—Physical properties of synthesized 5-FU derivatives

Compounds	mp(°C)	IR(KBr) cm <sup>-1</sup>	NMR(DMSO-d <sub>6</sub> )δ
2	149~151	3300, 3100, 3050, 2840, 1750, 1700	0.9(t, J=5 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.3(t, J=6 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> CO), 3.2(m, 2H, NHCH <sub>2</sub> ), 3.8(m, 2H, OCH <sub>2</sub> ), 8.2(d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6a	214~215	3350, 3040, 2930 1650	1.3~2.0(m, 11H, (CH <sub>2</sub> ) <sub>4</sub> CH <sub>3</sub> ), 4.1(s, 2H, NCH <sub>2</sub> ), 8.2(d, J=8 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6b	229~231	3100, 3040, 2930 1650, 1230	3.35(s, 2H, NHCH <sub>2</sub> ), 4.15(s, 2H, NCH <sub>2</sub> ), 7.75(d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6c	192~193	3100, 2900, 1730, 1680, 1490	3.35(s, 2H, NHCH <sub>2</sub> ), 3.48(s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 4.25(s, 2H, NCH <sub>2</sub> ), 7.75(d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6d	168~169	3100, 2900, 1730, 1680, 1490, 1240	1.35(t, J=5 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> ), 3.1(s, 2H, NHCH <sub>2</sub> ), 4.2(q, J=5 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> ), 4.45(s, 2H, NCH <sub>2</sub> ), 7.7(d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6e	240~242	3340, 3000, 1700, 1650	3.3~3.7(4H, 2NHCH <sub>2</sub> CO, H <sub>2</sub> O peak와 겹침), 4.12(s, 2H, NCH <sub>2</sub> ), 7.7(d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6f	213~214	3340, 3000, 1700, 1650	3.0~3.6(7H, 2NHCH <sub>2</sub> CO, CH <sub>3</sub> , H <sub>2</sub> O peak와 겹침), 4.15(s, 2H, NCH <sub>2</sub> ), 7.75(d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6g	205~207	3500, 3340, 3040, 1700, 1650	2.3 (t, J=6 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> CO), 3.15 (m, 2H, NHCH <sub>2</sub> ), 4.1 (s, 2H, NCH <sub>2</sub> ), 7.8 (d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6h	190~192	3340, 3020, 1730, 1680	2.4(t, J=5 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> CO), 3.25(m, 2H, NHCH <sub>2</sub> ), 3.6(s, 3H, CH <sub>3</sub> ), 4.2(s, 2H, NCH <sub>2</sub> ), 7.8(d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)
6i	178~180	3350, 3040, 1730, 1650, 1250	1.2(t, J=5 Hz, 3H, CH <sub>3</sub> ), 2.4(t, J=6 Hz, 2H, CH <sub>2</sub> CO), 3.2(m, 2H, NHCH <sub>2</sub> ), 4.2(m, 4H, NCH <sub>2</sub> , OCH <sub>2</sub> , (H <sub>2</sub> O peak)), 7.8(d, J=6 Hz, 1H, C <sub>6</sub> H)

높을수록 수율이 낮았으며 30~40% 정도였다. 각 화합물들의 특성은 Table I과 같다. 5-Fluorouracil-1-acetylglycine(**6b**), 5-Fluorouracil-1-acetyl-glycylglycine(**6e**), 5-Fluorouracil-1-acetyl-β-alanine(**6g**).

#### Leukemia L<sub>1210</sub> cells을 이용한 *in vitro* 항암성 작용

**검색**—본 실험실에서 계속해 오는 방법에 준해<sup>9)</sup> 증식시킨 leukemia L<sub>1210</sub> 세포들을 써서 일차적으로 각 합성화합물들 1×10<sup>-6</sup> M 및 1×10<sup>-7</sup> M 농도에서 세포증식억제 작용성을 검색하였고, 그 중 유의성있는 화합물들에 대해서는 재 검색하여 ED<sub>50</sub> 농도를 구하여 Table II에 요약하였다.

#### Sarcoma 180 암세포 *in vivo* 증식에 대한 억제작용

**용검색**—보고된 방법<sup>11)</sup>에 따라 아래와 같이 수행하였다. ICR 마우스 복강내에서 증식된 sarcoma 180 암세포를 생리식염수로 세척한 후 다시 생리식염수에 2×10<sup>6</sup> cell/ml되게 현탁하였다. 이 현탁액 0.1 ml/씩(2×10<sup>5</sup> cell/mouse)을 ICR 마우스(20~25 g)의 왼쪽 서혜부에 피하주사하여 고형암을 유발시켰다. 암세포 이식 24시간 후부터 생리식염수에 해당량의 시료를 녹인 용액을 0.1 ml/씩 복강내에 주사하였다. 대조군

**Table II**—Inhibitory effect of 5-fluorouracil derivatives on the growth of *in vitro* cultured leukemia L<sub>1210</sub> cells

Compound	Inhibition		
	1×10 <sup>-6</sup> M (%)	1×10 <sup>-7</sup> M (%)	ED <sub>50</sub> (M)
FU	95	18	2.06×10 <sup>-7</sup>
2 (carbamoyl)	100	83	5.01×10 <sup>-8</sup>
6 a	81	50	
b (gly)	87	65	1.03×10 <sup>-7</sup>
c (gly-Me)	74	59	1.30×10 <sup>-7</sup>
d (gly-Et)	57	27	
e (gly-gly)	82	49	1.72×10 <sup>-7</sup>
f (gly-gly-Me)	69	43	
g (β-ala)	85	58	1.32×10 <sup>-7</sup>
h (β-ala-Me)	69	49	
i (β-ala-Et)	59	25	

에는 생리식염수를 0.1 ml/씩 투여하고 각 실험군은 10마리씩으로 하였다. 약물투여일은 암세포 이식일을 0일로 하고, 1, 3, 5, 7, 9일에 1회씩 투여하였고, 28 일째 되는 날 실험동물을 처사시키고, 증식된 고형

암을 적출하여 그 중량을 측정하고 다음식에 의거하여 종양증식 억제율을 계산하였다( $C_w$ : 대조군의 평균종양중량,  $T_w$ : 시료투여군의 평균종양중량).

$$\text{종양증식 억제율(\%)} = (C_w - T_w) / C_w \times 100$$

**암세포 배양액에서 합성약물 분해실험**— $L_{1210}$  세포 현탁액( $5 \times 10^4$  cell/ml  $\times 5$ )에 항암성이 있는 합성화합물들을 DMSO에 녹여  $1 \times 10^{-3}$  M 농도로 넣고 5시간 동안 배양한 후 배양액 0.3 ml를 분취하고, acetonitrile 0.7 ml를 가하여 반응을 중단시킨 후 원심분리하고 상등액을 취하여 HPLC(0.01 M- $\text{KH}_2\text{PO}_4$ , pH 7.2 전개용매 사용, 검체  $20 \mu\text{l}$  주입)하고 표준물질과 비교분석(UV 272 nm에서 흡수도 비교)하여 Table IV에 나타내었다.

### 결과 및 고찰

**화합물 합성**—고분자 물질에 5-FU를 결합시키기 위하여 5-FU의  $N^1$  위치에 carbamoyl기로 연결되고 말단에 carboxylic acid기를 가진 5-FU 유도체를 합성하고자 하였다(Scheme 1). 5-FU의  $N^1$ -carbamoylalkane 유도체들은 합성이 비교적 용이하며,<sup>9)</sup> 또 한편 비교적 약한 결합형으로 체액에서 분해되어 서서히 모5-FU를 유리시켜 주리라 보아지기 때문이다.<sup>3)</sup> 길이가 다른 여러 dicarboxylic acid로부터 Ozaki 등<sup>10)</sup>의 방법을 활용하여 5-FU-1-carbamoylalkanoate ester는 얻었으나(예: 화합물 2) 산 또는 알칼리를 이용한 ester 가수분해 과정에서 carbamoyl기가 분해되어 5-FU-1-carbamoylalkanoic acid(3)를 분리할 수가 없었다.

다음으로  $N^1$ -carbamoyl기보다는 안정한 결합형태나 생체내 분해가 가능하리라고 예상되는 형태(특히 효소분해) 5-FU의  $N^1$ 에 acetamido 결합으로 길이가 다른 연결고리를 만들고자 하여 크기가 다른 amino acid들(및 ester)과 결합하여 화합물들(6a~i)을 합성하였다. 즉 보고된 방법에 따라 5-FU로부터 5-FU-1-acetic acid(4, mp 272~274°C)를 얻고, 이어 carboxylic acid기를 탈수제 dicyclohexylcarbodiimide 존재하에 N-hydroxysuccinimide와 반응시켜 활성형으로한 5-FU-AA의 NHS ester(5)를 얻었다.<sup>6)</sup> 이 활성형 5-FU-AA-NHS ester를 물-acetone 용액에서  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  염기 촉매하에 각 amino acid 또는 ester들과 반응

시켜 결합체들을 형성시키고 실험의 방법에 따라 정제하여 각 결합체들을 얻었다. 각 합성화합물들의 수율은 화합물의 용해도에 따라 차이가 있었으나 대체로 30~40%였다. 얻어진 화합물들의 구조는 주로 NMR spectra상에 5-FU 환의  $C_6$ -H 수소의 doublet peak( $\delta$  7.7~8.3,  $d$ ,  $J=8$  Hz,  $C_5$ -F와 coupling)와 amino acid들의 CH peak들( $\delta$  2.5~4.5)로 확인하였다. 이들 화합물들의 물리적 성질 data는 Table I에 요약되었다.

**항암성 작용**—이들 합성화합물들을 고분자 물질에 결합시키기에 앞서 그들 자체들의 항암성 작용을 보고자 하여 leukemia  $L_{1210}$  암세포 *in vitro* 증식에 대한 억제작용을 검색하였다. 먼저 각 화합물  $1 \times 10^{-6}$  M 및  $1 \times 10^{-7}$  M 농도에서 억제작용을 보았고,  $1 \times 10^{-7}$  M 용액에서 유의성있는 작용을 보이는 화합물들에 대해서는 재시험하여  $ED_{50}$ 를 구하여 Table II에 요약하였다. Table II에서 보여지는 바와 같이 5-FU의  $N^1$ -carbamoyl 유도체 2는 모5-FU보다 1/4 정도 낮은  $5.01 \times 10^{-8}$  M 농도에서 암세포 증식을 50% 억제시켰다. 5-FU의  $N^1$ -acetamido 유도체들(6a~i)도 대부분 모5-FU보다 약간 높은 암세포 증식 억제작용을 보였다. 이들 유도체들은 amino acid 변화에는 억제작용 정도에 큰 차이를 보이지 않았고, 말단에는 ester기 보다는 유리 acid기를 가진 화합물들이(6a, c, g) 약간 높은 억제작용을 보였다. 이들 중 glycine 결합체인 6b 및 6c가 각각  $1.03 \times 10^{-7}$  M 및  $1.30 \times 10^{-7}$  M의 낮은 농도에서 암세포 증식을 50% 억제시키는 좋은 결과를 보였다.

합성된 화합물들이 *in vitro* 항암실험에서 좋은 결과를 보여줌으로 이들 중 작용성이 큰 5-FU의  $N^1$ -carbamoyl 유도체 2와  $N^1$ -acetamido 유도체 중 glycine 및 그의 ester 결합체(6b, c)를 선별하여 *in vivo* 항암성 작용을 검색하였다. 즉 ICR mice의 서혜부에 sarcoma 180 암세포를 이식시킨 후 Table III과 같은 농도로 각 약물을 복강내 5일간 투여해주고 계속 관찰하고, 28일째 되는 날 암조직을 적출하여 크기를 비교하였다. Table III에 요약된 바와 같이 5-FU는 50 mg/kg/day 투여시 독성이 커서 28일전에 mice가 모두 죽었고, 그리고 암조직 증식 정도를 비교할 수 없었다. 5-FU의  $N^1$ -carbamoyl 유도체인 2 화합물은 200~300 mg/kg/day 투여시에는 mice를 죽이는 독성을 보였으나, 100 mg/kg/day 투여시는 28일째까지

**Table III**—*In vivo* inhibitory effect of 5-fluorouracil derivatives on the growth of sarcoma 180 tumor cells inoculated subcutaneously into ICR mice

Compound	Dose (mg/kg/day)	Average tumor weight(g) (mean± S.D.)	Inhibition (T/C %)	Number of survivors on 28th day
Control	saline	4.44±0.26	—	10/10
5-FU	50	—	Toxic	0/10
2	100	1.66±0.98*	62.65	10/10
	200	1.62±0.76*	Toxic	3/10
	300	—	Toxic	0/10
6b	70	2.96±0.67	33.33	10/10
	100	2.03±0.82*	54.33	10/10
6c	100	2.50±0.51**	43.75	10/10
	200	1.06±0.50**	76.21	10/10

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$ **Table IV**—The percentages (%) of analyzed products after incubation of the active 5-FU derivatives in the cultural media of leukemia L<sub>1210</sub> cells for 5 hrs

Incubated compound	5-FU	5-FU-AA
2 (carbamoyl)	58	35
6b (glycine)	84	10
6c (gly-Me)	73	8

모든 mice가 생존하였고 암조직 크기는 대조군에 비해 62% 정도 감소를 보였다. 한편 5-FU의 N<sup>1</sup>-acetamido 유도체인 **6b**는 100 mg/kg/day에서 54% 그리고 **6c**는 200 mg/kg/day에서 76%의 암조직 증식을 억제시켰다. 특히 이들은 mice들에 대해 이 농도에서 독성을 나타내지 않아 28일까지 모두 생존되었다.

한편 이들 합성화합물들이 모5-FU를 유리시키므로 억제작용을 나타내는지 보기 위하여 L<sub>1210</sub> 암세포 배양액에서 5시간 동안 배양시킨 후 잔존물질들을 분석하여 Table IV와 같은 결과를 얻었다. 과연 분해가 용이한 N<sup>1</sup>-carbamoyl 유도체인 화합물 **2**는 분해되어 5-FU를 35% 정도나 유리시켰고,<sup>8)</sup> N<sup>1</sup>-acetamido 유도체인 **6b** 및 **c**는 많은 부분이 원래의 화합물로 존재하고 8~10% 정도만이 5-FU로 분해되어 있었다. 이 실험결과로 이들 유도체로부터 모5-FU가 유리되므로 5-FU로서 항암성 작용을 나타내었으리라 예상되나 그밖에 기전이 완전히 고려되지 않는 것은 아니다. 특히하제도 acid 유도체 **6b**와는 달리 ester

화합물 **6c**는 상당량의 5-FU-AA(**4**)를 유리시키고 있었다(12% 정도).

이상의 실험결과들로 5-FU를 N<sup>1</sup>-acetamido 결합 형태로 고분자 물질과 연결시킬 때 N<sup>1</sup>-acetamido 결합이 분해되어 모5-FU를 유리시켜 줄 수 있다고 예상되나 실제 약효면에 있어서는 약물의 유효농도 특히 암세포내에서 유효농도 유지가 문제시 되니 결합체를 형성한 후에 약물동태와 약물작용성을 재검토하여야 하리라 본다. 한편 이들 유도체들 자신의 항암성 작용도 좀더 구체적으로 다양한 암조직들에 대해 연구되어야 하리라 본다.

## 결 론

고분자 운반체에 항암성 5-FU를 결합시키기 위한 연결고리 연구의 일환으로 5-FU의 N<sup>1</sup>-carbamoyl 유도체 **2**와 N<sup>1</sup>-acetamido 유도체 **6a~i**를 합성하였다. 합성된 화합물들을 leukemia L<sub>1210</sub> 암세포를 이용한 *in vitro* 항암작용검사를 한 결과 이들은 대체로 모5-FU보다 높은 암세포 증식 억제작용을 보였다. 특히 N<sup>1</sup>-carbamoyl 유도체 **2**는 ED<sub>50</sub>가 5.01×10<sup>-8</sup> M이었고, N<sup>1</sup>-acetamido 유도체 **6b**는 ED<sub>50</sub> 1.03×10<sup>-7</sup> M이었다. 한편 mice를 이용한 sarcoma 180 고형암에 대한 *in vivo* 증식억제효과 실험결과 N<sup>1</sup>-carbamoyl 유도체 **2**는 100 mg/kg/day로 5일간 투여하였을 때 62% 정도 억제효과를 그리고 N<sup>1</sup>-acetamido 유도체 **6b**와 **e**는 각각 54%(at 100 mg/kg/day×5) 및 76%(at 200 mg

/kg/day×5) 억제효과를 보였다. 작용성이 있는 이들 합성 유도체들은 L<sub>1210</sub> cell 배양액에서 분해되어 모5-FU를 유리시켰다.

### 감사의 말씀

본 연구는 한국과학재단 우수연구센터-신의약품 개발연구센터-지원 연구비로 수행하였다. 이에 진심으로 감사합니다. 한편 연구가 원만히 진행되게 협조해주신 서울대학교 약학대학 미생물실과, 서울대학교 암연구소 박재갑 교수님께 감사드립니다.

### 문 헌

- 1) Reynolds, J. E. F. Martindale, The Extra Pharmacopia, 28Ed., The Pharmaceutical Press, London, pp. 209 (1982).
- 2) O'Hare, K. B., Hume, I. C., Scarlett, L., Chytry, V., Kopeckova, P., Kpecek, J., and Duncan, R., Effect of galactose on interaction of N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide copolymers with hepatoma cells in culture: Preliminary application to an anticancer agent, Daunomycin. *Hepatology*, **10**, 207 (1989).
- 3) Ozaki, S., Ohnishi, J., Akiyama, T., Nagase, T., Uehara, N., and Hoshi, A., Preparation of antitumor active vinyl polymers containing 5-fluorouracil as a component. *Polymer J.*, **22**, 689 (1990).
- 4) Ryser, H. J. P. and Shen, W. C., Conjugation of methotrexate to poly-L-lysine increases drug transport and overcomes drug resistance in cultured cells. *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **75**, 3867 (1987).
- 5) Kato, Y., Saito, M., Fukushima, H., Takeda, Y. and Hara, T., Antitumor activity of 1-β-D-arabinofuranosylcytosine conjugated with polyglutamic acid and its derivatives. *Cancer Res.*, **44**, 25 (1984).
- 6) 이희주, 신혜순, 이명걸, 박만기, 김종국, 약물-고분자 물질 결합체 합성 연구: 5-Fluorouracil과 사람의 혈청 알부민 및 poly-L-lysine 결합체 합성. *약학회지*, **33**, 267 (1989).
- 7) Chung, S. M., Yoon, E. J., Kim, S. H., Lee, M. G., Lee, Heejoo, Park, M. K., and Kim, C. K., Pharmacokinetics of 5-fluorouracil after intravenous infusion of 5-fluorouracil-acetic acid-human serum albumin conjugates to rabbits. *Int. J. Pharmac.*, **68**, 61 (1991).
- 8) Kobari, T., Tan, K., Kumakura, M., Watanabe, S., Shirakawa, I., Kobayashi, H., Ujiie, A., Miyama, Y., Namekawa, H. and Yamamoto, H., Metabolic fate of 1-hexylcarbonyl-5-fluorouracil in rats. *Xenobiotica*, **8**, 547 (1978).
- 9) 이희주, 장판섭, 김재완, 정기화, 신순희, 신혜순, 정순복, 5-Fluorouracil-지질 결합체 합성 및 *in vitro* 항암효과 평가. *약학회지*, **34**, 395 (1990).
- 10) Ozaki, S., Ike, Y., Mizuno, H., Ishikawa, K., Mori, H., 5-Fluorouracil derivatives. I. The synthesis of 1-carbonyl-5-fluorouracil. *Bull. Chem. Soc., Japan*, **50**, 2406 (1977).
- 11) Kim, J. H., Kim, H. W., Kim, J. W., Choi, E. C. and Kim, B. K., Studies on constituents of the higher fungi of Korea (LI). Antitumor components extracted from the cultured mycelia of *Volvariella bombycina*. *J. Korean Cancer Res. Assoc.*, **17**, 205 (1985).