

N'-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea 유도체의 환원반응에 대한 전기화학적 거동

元美淑[†] · 金正均 · 鄭義德 · 沈允輔*

부산대학교 자연과학대학 화학과

[†] 기초과학지원연구소 부산분소

(1995. 6. 10 접수)

Electrochemical Behaviors for Cathodic Reaction of *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea Derivatives

Mi Sook Won[†], Jack C. Kim, Euh Duck Jeong, and Yoon-Bo Shim*

Department of Chemistry, Pusan National University, Pusan 609-735, Korea

[†]Pusan Branch, Korea Basic Science Institute, Pusan National University,
Pusan 609-735, Korea

(Received June 10, 1995)

요 약. 유리질 탄소전극을 사용하여 조사한 몇가지 *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea 유도체들의 전기화학적 환원반응은 확산제어적이고 비가역적인 반응이었다. 이들 유도체들의 환원 반응시의 교환속도 상수 k_0 값은 $1.48 \times 10^{-6} \sim 5.32 \times 10^{-7}$ cm/sec의 값을 나타내었다. Aryl기 및 alkyl기의 치환기에 따른 교환속도상수는 *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosooureas에서 aryl기가 phenyl일 경우, 다른 치환기보다 k_0 값이 1.3~2.8배였다. *N'*-aryl-*N*-methyl-*N*-nitrosoourea와 *N'*-aryl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoourea의 두 화합물에서 aryl기의 치환기가 같을 경우는 비슷한 값을 나타내었다. *N'*-aryl-*N*-methyl-*N*-nitrosoourea 유도체는 pH값이 높아짐에 따라 E_p 값이 음전위쪽으로 이동하며 각 환원 반응에 참여한 H^+ 의 수는 4~5개였다. 이 경우 aryl기의 치환기 효과는 환원전위에 크게 영향을 미치지 않는 것으로 나타났다.

ABSTRACT. The electrochemical reduction reactions of *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea derivatives with a glassy carbon electrode were diffusion controlled and irreversible. The exchange kinetic constant k_0 values for reduction reaction of the *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosooureas were at the range of $1.48 \times 10^{-6} \sim 5.32 \times 10^{-7}$ cm/sec. The k_0 values for phenyl substituted on the aryl position were about 1.3~2.8 times higher than that of other substituents. The same substituent for aryl groups on the both of *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea and *N'*-aryl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoourea exhibited same value. The E_p value was shifted to the negative direction as pH increased. The number of protons participated to the reduction was 4~5, respectively. The substituent effect of aryl group on the reduction potential was not observed in this case.

서 론

Nitrosoourea에 대한 전기화학적 특성에 대해서 몇명의 연구자에 의해 아래와 같이 진행된 바 있다. Borghesani¹는 *N'*-nitrosodiisopropylamine, *N'*-nitrosobutylamine, diisobutylamine을 20% EtOH/H₂O 및 Britton-Robinson 완충용액에서 플라로그

라피 실험을 통해 pH에 따른 $E_{1/2}$ 의 의존도를 조사한 결과 pH<5 범위에서 선형적인 비례관계를 얻었으며, Tafel식을 이용하여 용액의 액성에 따른 nitrosoourea의 환원 경로를 조사하여 산성 용액에서는 nitrosoamine의 protonation이 생기는 친전자성 반응이 진행되며 염기성 용액에서는 친핵성 반응이 진

행됨을 보고한 바 있다. Kemula²는 HMDE(hanging mercury drop electrode)를 사용하여 nitrosobenzene/phenyl hydroxyamine에 대한 순환전압전류법(cyclic voltammetry)을 행하였으며, 단순주사법(single scan method) 및 순환전압전류법에 의한 속도상수 결정과 전극 반응 메카니즘에 대한 연구가 Nicholson³에 의해 행해진 바 있다.

1963년 Montgomery⁴에 의해 *N*-nitrosoourea 유도체 일부가 항암 작용을 나타낸다는 사실이 발견되면서 새로운 항암제 개발을 위하여 이들 유도체들이 많이 합성되었고 그 구조와 활성 관계를 계속 연구하였다. 실제로 Montgomery 등이 초기 연구에서 합성한 *N*-nitrosoourea 유도체로 *N,N'*-bis(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoourea⁴(BCNU), *N*-(2-chloroethyl)-*N'*-cyclohexyl-*N*-nitrosoourea,⁵ *N*-(2-chloroethyl)-*N'*-(4-methylcyclohexyl)-*N*-nitrosoourea⁵ 등이 항암제로서 암치료에 기여하고 있다.⁶⁻¹⁰ BCNU와 다른 chloroethylnitrosoourea의 경우 인체내에서의 활성은 생물적 거대분자에 장애를 일으키는 친전자체를 형성하는 능력에 달려있다.¹¹ Hill 등은 쥐간의 NADPH-의존 주 대사산물이 1,3-bis(2-chloroethyl)urea임을 확인하였다.¹² 실제 용액내에서 *N*-nitroso 화합물들에 대한 전기화학적 환원반응에 대한 메카니즘 연구가 진행되고 있으며 hydroxyamine 유도체나 hydrazine 유도체의 제법에도 전기화학적 방법이 이용되고 있다.¹³⁻²⁴

본 실험실에서도 위에서 연구된 *N*-nitrosoourea 유도체와 비슷한 분자 구조를 가진 *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea 유도체를 합성하고^{25,26} *N'*-phenyl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoourea 유도체의 전기화학적 거동과 *N*-aminourea의 합성²⁸ 및 *N'*-phenyl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea의 환원 메카니즘을 보고한 바 있다.²⁹ 앞의 연구에서 환원 생성물으로써 *N*-aminourea 및 urea 화합물을 IR, NMR 및 mass 자료로부터 확인하였으며 본 연구에서는 용액상에서 몇가지 *N*-nitrosoourea 유도체들에 대한 순환전압전류법을 실시하여 환원반응에 대한 전기화학적 특성 및 반응속도인자를 구하였다. 그리고 이러한 결과로부터 인체내에서 생길 수 있는 chloroethylnitrosoourea 유도체들의 항암활성과 분자구조와의 관계를 예측하고자 하였다.

실 험

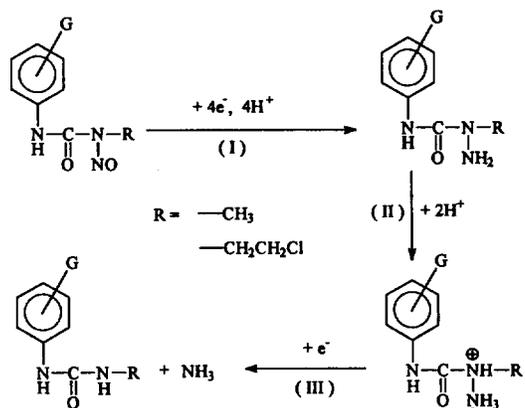
시약 및 기기. 2-chloroethyl isocyanate, methyl isocyanate 및 각 aniline 유도체(Aldrich Chem. Co.)는 특급 시약을 사용하였으며, NaNO₂ 및 용매로 사용한 CH₂Cl₂, CHCl₃, EtOH 및 완충용액은 시판용 특급 시약을 그대로 사용하였다. HCOOH(90%)는 phthalic anhydride를 사용하여 1차 정제하였으며, 용액 제조는 탈이온화된 증류수(Millipore, Milli-Q™ Water System)를 사용하였다.

순환전압전류법 및 전기량 측정법은 EG&G사의 Model 273 Potentiostat/Galvanostat 및 m270 software를 사용하였으며, KIPP&ZONEN사의 BD 90 X-Y 기록계를 사용하였다.

실험방법. *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea 유도체의 합성은 이미 보고한^{25,26} *N'*-aryl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoourea와 동일한 방법으로 합성 및 확인을 하였다. 전기화학적 측정은 삼전극법으로 하였으며 기준전극으로는 Ag/AgCl/4M-HCl, 보조전극으로는 나선형 백금선, 작업전극으로는 유리질 탄소전극(Tokai GC-20, 7.2 mm²)을 사용하였다. 작업전극은 사용하기 전 매번 0.1 μm의 알루미나/증류수 반죽에서 연마한 후 증류수로 세척하고 50% EtOH 용액으로 세척한 후 사용하였다. 4M-HCl/EtOH 및 Robinson-Britton 완충용액을 전해질로 사용하였으며 측정전에 질소를 10분간 통기시켜 산소를 제거시킨 후 실험하였다. 반응에 참여한 전자수는 작업전극으로 백금망 전극을 이용하여 전기량 측정법에 의하여 구하였다.

결과 및 고찰

N'-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosoourea 유도체들에서 aryl기의 치환기 및 alkyl기가 전기화학적 환원 반응에 미치는 영향을 조사하기 위하여 *N'*-phenyl-*N*-methyl-*N*-nitrosoourea(PNU), *N'*-(3-methylphenyl)-*N*-methyl-*N*-nitrosoourea(3-methylPNU), *N'*-(3-bromophenyl)-*N*-methyl-*N*-nitrosoourea(3-bromoPNU), *N'*-phenyl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoourea(PCNU), *N'*-(3-methylphenyl)-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoourea(3-methylPCNU), *N'*-(3-bromophenyl)-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoourea(3-



Scheme 1. Mechanism in the electrolysis of *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosourea derivatives.

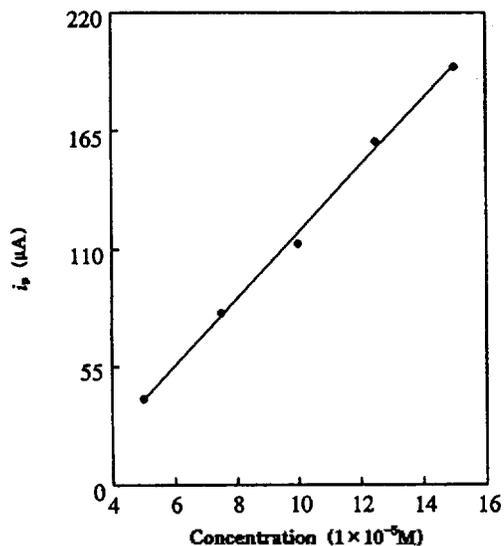


Fig. 1. Dependence of i_p of PCNU on concentration. Scan Rate: 50 mV/sec.

bromoPCNU), 및 *N'*-(4-methoxyphenyl)-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea(4-methoxyPCNU)에 대하여 순환전압전류법을 행하였으며 반응의 가역성 및 환원 반응의 속도상수를 구하였다. PCNU의 환원반응시 *N'*-phenyl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-amino-urea 및 *N'*-phenyl-*N*-methylurea가 생성되는 반응 메커니즘은 다음의 Scheme 1에 제시된 바 있다.²⁹

환원 생성물의 생성시 백금망 전극을 작업 전극으로 하여 전기량 측정법에 의해 결정된 전자수는 각 반응 모두 4~5전자 반응이었다.

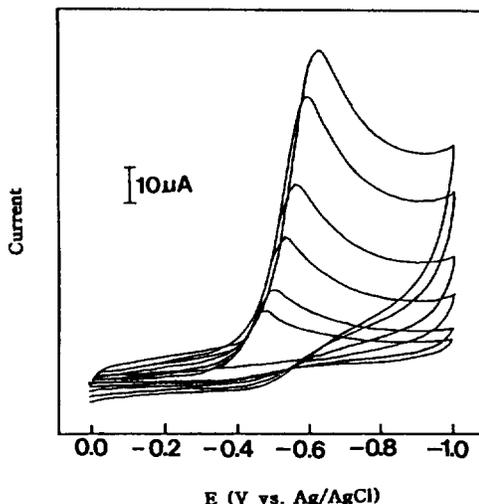


Fig. 2. Cyclic voltammograms obtained with the 0.5 mM *N'*-phenyl-*N*-methyl-*N*-nitrosourea in (1:1) 4M HCl/EtOH, at 10, 20, 50, 100, 200, and 300 mV/sec.

각 화합물의 농도 변화에 따른 환원 전류크기(i_p)를 조사한 결과 환원 전류값이 측정 농도 범위에서 직선적으로 증가하여 환원반응은 확산지배에 의한 것임을 확인하였다(Fig. 1). 화합물들의 환원반응 특성 파악을 위해 각 화합물들의 주사속도에 따른 E_p 값의 변화를 조사하였다. (1:1) 4M HCl/EtOH 용액속에서 0.5 mM PNU의 주사속도 변화에 대한 순환전압전류 곡선을 Fig. 2에 나타내었으며, Fig. 3에는 *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosourea 유도체에서 대표적인 PNU 및 PCNU 화합물의 $v^{1/2}$ 에 대해 i_p 를 도시하였으며 이러한 결과는 비가역 반응에 사용되는 식 (1)³⁰을 이용하여 얻었다.

$$i_p = (2.99 \times 10^5) m (a n_a)^{1/2} A C_0^* D_0^{1/2} v^{1/2} \quad (1)$$

Fig. 2에서 주사속도가 증가함에 따라 E_p 값이 “-” 쪽으로 이동하였으며 Fig. 3에서는 주사속도 변화에 따른 i_p 값이 직선성을 나타내었다. 이러한 결과로부터 환원 반응은 비가역적임을 알 수 있었다. 또한 반응속도 인자를 구하기 위해 i_p 와 $(E_p - E^0)$ 의 관계식 (2)에서 대수를 취해 얻어진 식 (3)으로부터 PNU 및 PCNU 화합물의 $(E_p - E^0)$ 를 $\ln i_p$ 에 대해 도시하여 Fig. 4에 나타내었다.

$$i_p = 0.227 n F A C_0^* k_0 \exp[-(a n_a F / RT)(E_p - E^0)] \quad (2)$$

$$\ln i_p = -(a n_a F / RT)(E_p - E^0) + \ln(0.227 n F A C_0^* k_0) \quad (3)$$

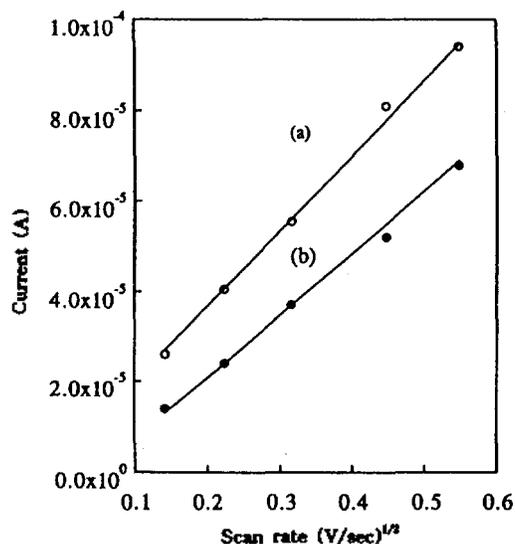


Fig. 3. Plots of i_p vs. $v^{1/2}$ for (a) *N'*-phenyl-*N*-methyl-*N*-nitrosourea and (b) *N'*-phenyl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea.

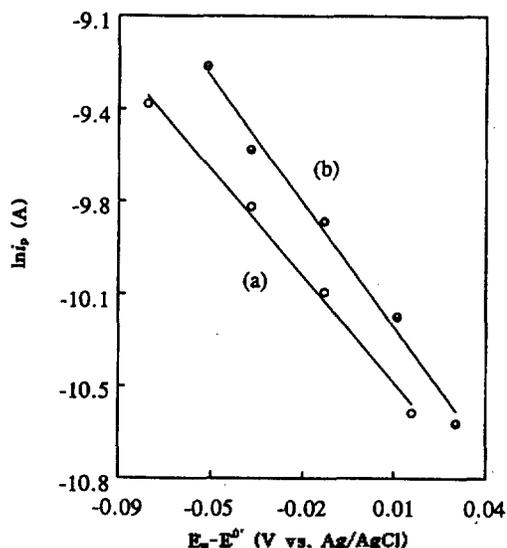


Fig. 4. Plots of $\ln i_p$ vs. $E_p - E^0$ for (a) *N'*-phenyl-*N*-methyl-*N*-nitrosourea and (b) *N'*-phenyl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea.

Fig. 4의 기울기로부터 αn_a 를, y축 절편으로부터 교환속도상수 k_0 를 구하였다. 여기서 i_p 는 주사속도 변화에 따른 환원 전류(A), α 는 전이계수, n_a 는 반응속도결정에 관여한 전자수, F 는 faraday 상수 (96,485 C), A 는 전극의 면적(cm^2), C_0^* 는 화합물의 농도(mole/cm^3), k_0 는 교환속도상수(cm/sec), E_p 는 주사속도 변화에 따른 환원전위(V), E_0' 는 형식전위를 나타낸다. 본 실험에서 구한 E_0' 는 Tafel plot³¹을 이용한 Vetter 그룹에서의³² Mn(IV)의 Mn(III)로의 환원에 대한 연구에서와 같이 E vs. $\log i$ 에서 과전압에 의해 극단적으로 떨어지는 전위 부분을 외삽하여 근사적으로 E^0 를 구하고 이를 계산에 이용하였다. 식 (3)으로부터 구한 각 화합물의 k_0 와 αn_a 는 Table 1에 나타내었다.

Table 1에서와 같이 k_0 값은 $1.48 \times 10^{-6} \sim 5.32 \times 10^{-7} \text{ cm}/\text{sec}$ 의 값을 가지며 *N'*-aryl-*N*-methyl-*N*-nitrosoureas의 경우 aryl기가 phenyl일 경우가 3-methylphenyl과 4-bromophenyl일 경우보다 교환속도상수 k_0 값이 1.5배였으며, *N'*-aryl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosoureas의 경우 aryl기가 phenyl일 경우가 3-methylphenyl, 3-bromophenyl 및 4-methoxyphenyl일 경우보다 교환속도상수 k_0 값이 1.3~2.8배 정도였고 치환기의 전자효과에 따른 경향성을

Table 1. The value of k_0 and αn_a for *N'*-aryl-*N*-alkyl-*N*-nitrosourea derivatives

Compound	$k_0(\text{cm}/\text{sec})$	αn_a
PNU ^a	1.05×10^{-6}	0.586
3-methylPNU ^b	6.76×10^{-7}	0.526
4-bromoPNU ^c	7.24×10^{-7}	0.549
PCNU ^d	1.48×10^{-6}	0.354
3-methylPCNU ^e	6.08×10^{-7}	0.385
3-bromoPCNU ^f	1.12×10^{-6}	0.496
4-methoxyPCNU ^g	5.32×10^{-7}	0.578

^a*N'*-phenyl-*N*-methyl-*N*-nitrosourea, ^b*N'*-(2-methylphenyl)-*N*-methyl-*N*-nitrosourea, ^c*N'*-(4-bromophenyl)-*N*-methyl-*N*-nitrosourea, ^d*N'*-phenyl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea, ^e*N'*-(3-methylphenyl)-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea, ^f*N'*-(3-bromophenyl)-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea, ^g*N'*-(4-methoxyphenyl)-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea.

나타내지는 않았다. Aryl기의 치환기 효과는 환원전위의 변화에 일정한 경향성을 나타내지는 않았다. 이러한 현상은 환원이 일어나는 N-NO기와 aryl기의 치환기가 멀리 떨어져 있기 때문에 직접적인 효과를 나타내지 않는 것으로 생각할 수 있다. 또한 *N'*-aryl-*N*-methyl-*N*-nitrosourea와 *N'*-aryl-*N*-(2-chloroethyl)-*N*-nitrosourea의 두 화합물에서 aryl기의 치

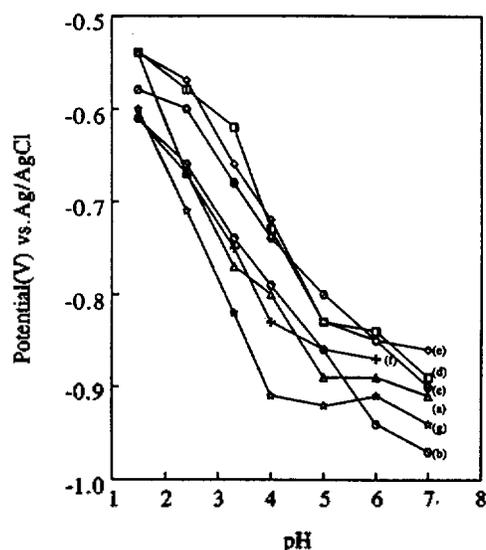
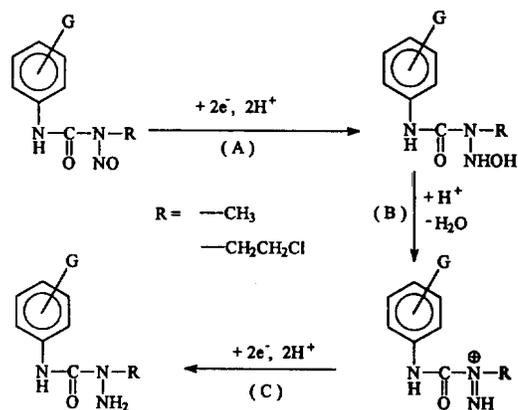


Fig. 5. $E_{p/2}$ for dependence of 0.5 mM N' -aryl- N -alkyl- N -nitroso-urea derivatives on pH. (a) N' -phenyl- N -methyl- N -nitroso-urea, (b) N' -(3-methylphenyl)- N -methyl- N -nitroso-urea, (c) N' -(4-bromophenyl)- N -methyl- N -nitroso-urea, (d) N' -phenyl- N -(2-chloroethyl)- N -nitroso-urea, (e) N' -(3-methylphenyl)- N -(2-chloroethyl)- N -nitroso-urea, (f) N' -(3-bromophenyl)- N -(2-chloroethyl)- N -nitroso-urea, (g) N' -(4-methoxyphenyl)- N -(2-chloroethyl)- N -nitroso-urea. Scan rate was 100 mV/sec.

환기가 같을 경우 비슷한 값을 나타내는 것으로 보아 알킬기의 변화는 반응속도에 크게 영향을 미치지 않음을 알 수 있었다. N' -aryl- N -alkyl- N -nitroso-urea 유도체의 환원반응시의 pH 영향을 검토하기 위해 각각 다른 pH 용액에서 순환전압전류법을 행하여 용액의 pH와 환원전위의 관계를 Fig. 5에 나타내었다. 3-bromoPCNU 및 4-methoxyPCNU를 제외하고는 pH 5 이하인 용액에서는 pH값이 높아짐에 따라 각 물질에 대한 환원전위는 “-”쪽으로 직선적으로 이동하는 경향을 나타내었다. 3-bromoPCNU 및 4-methoxyPCNU는 pH 5 이하인 용액에서 동일한 결과를 나타내었다. pH 6 이상이 되면 직선성에서 벗어나며 파의 높이가 줄어드는 경향을 나타내었다. 이 결과로부터 pH가 높은 용액에서는 환원이 점점 어려워지며 화합물이 분해된다는 사실을 알 수 있으며 산성 용액에서는 H^+ 이온의 제공이 용이해져 반응이 빨리 진행되어 상대적으로 환원반



Scheme 2. Detail mechanism of (I) step in Scheme 1.

응이 쉽게 일어나는 것으로 볼 수 있다. 이러한 결과들은 이미 보고된 N -nitroso-urea 화합물들의 특성과 잘 일치되고 있다.³³

본 연구에서는 pH 5 이하에서 $E_{p/2}$ 와 pH의 관계식 (4)에서 $E_{p/2}$ 대신 E_p 를

$$dE_{1/2}/dpH = -0.059p/an_a \quad (4)$$

사용하여 구한 기울기는 90.3~115.9mV이었으며 이 기울기는 플라로그라피에서 얻은 $dE_{1/2}/dpH$ 값과 잘 일치하였으므로²⁸ $E_{1/2}$ 대신 E_p 값을 사용하여 기울기를 구하였다. 위의 관계식을 이용하여 각 반응의 an_a 값으로부터 구한 환원 반응시 유효전자수에 참여한 H^+ 의 수(p)는 1개였다. Scheme 1의 단계를 Scheme 2와 같이 더 세부적으로 나타낼 수 있으며,³⁴ H^+ 1몰이 첨가되는 (B) 단계를 반응의 유효 단계로 생각할 수 있다.

이상의 실험에서 얻은 결과로부터 각 화합물내의 알릴기의 치환기 및 알킬기의 변화는 반응속도상수에 크게 영향을 미치지 않았으며 분자구조의 변화는 항암 활성을 나타낼 수 있는 친전자체인 urea 화합물의 생성속도에 변화요인으로 작용하지 않음을 알 수 있었다. 그리고 산성이 강한 용액일수록 친전자체의 생성이 용이함을 나타내었다.

본 연구는 1995년도 교육부 기초과학 학술조성비 (BSRI-95-307)의 연구비 지원에 의해 수행되었으며 이에 감사함을 드립니다.

인 용 문 헌

1. Borghessani, G.; Pulidori, F.; Pedrialli, R. *J. Electroanal. Chem.* **1970**, *27*, 385.
2. Kemula, W.; Kublik, Z. *Rocz. Chem.* **1958**, *32*, 941.
3. Nicholson, R. S.; Shain, I. *Anal. Chem.* **1965**, *37*, 190.
4. Johnston, T. P.; McCaleb, G. S.; Montgomery, J. T. *J. Med. Chem.* **1963**, *6*, 669.
5. Johnston, T. P.; McCaleb, G. S.; Opliger, P. S.; Montgomery, J. T. *J. Med. Chem.* **1966**, *9*, 892.
6. Wheeler, G. D. *Cancer Chemistry*; Sartorelli, A. C.; American Chemical Society: Washington, D. C., 1976.
7. Cheng, C. J.; Fujimura, S.; Grunberger, D.; Weinstein, I. B. *Cancer Rev.* **1972**, *32*, 22.
8. Montgomery, J. A.; Johnston, T. P.; Shealy, Y. F. *Medical Chemistry*; Burger, A.; Wiley Interscience: New York, 1970; Part I.
9. Connors, T. A. *Top. Curr. Chem.* **1974**, *52*, 160.
10. Montgomery, J. A. *Cancer Treat. Rep.* **1976**, *60*, 651.
11. Haey-Shin Lin, Robert J. Weinkam. *J. Med. Chem.* **1981**, *24*, 761.
12. J. William Lown, Shive M. S. Chauhan. *J. Org. Chem.* **1983**, *48*, 507.
13. Laviron, E.; Fournari, P. *Bull. Soc. Chim. France* **1966**, 518.
14. Zharandik, K.; Svatek, E. *Chem. Listy* **1957**, *51*, 2232.
15. Lemal, D. M.; Menger, F. J. *Am. Chem. Soc.* **1964**, *86*, 2395.
16. Christian, S. D.; Klaebae, P. *Acta Chem. Scand.* **1967**, *21*, 2293.
17. Whitnack, G. C.; Weaver, R. D.; Kruse, H. W. *Chem. Abstr.* **1946**, *60*, 10216.
18. Schmidt, H. *J. Chem. Abstr.* **1962**, *56*, 320.
19. Desseigne, C. *Cohen. Chem. Abstr.* **1962**, *56*, 320.
20. Schmidt, H. J.; Nees, H. *Chem. Abstr.* **1960**, *54*, 6370.
21. Horwitz, D.; Cervonka, E. *Chem. Abstr.* **1960**, *54*, 6370.
22. Cook, E. W.; France, W. G. *J. Phy. Chem.* **1962**, *36*, 2383.
23. Iversen, P. E. *Acta. Chem. Scand.* **1971**, *25*, 2337.
24. Iversen, P. E. *Acta. Chem. Scand.* **1970**, *24*, 2459.
25. Kim, J. C.; Cho, I. S. *J. Pharm. Soc. Korea* **1983**, *27*, 177.
26. Kim, J. C.; Kim, M. S.; Lee, H. K. *Arch. Pharm. Res.* **1983**, *6*, 115.
27. Kim, J. C.; Cho, I. S.; Choi, S. K. *J. Kor. Chem. Soc.* **1991**, *35*, 240.
28. Won, M. S.; Kim, J. C.; Shim, Y. B. *J. Kor. Chem. Soc.* **1991**, *35*, 707.
29. Won, M. S.; Kim, J. C.; Shim, Y. B. *Bull. Korean Chem. Soc.* **1992**, *13*, 214.
30. Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Method*; John Wiley & Sons: New York, 1980; p 222.
31. Bard, A. J.; Faulkner, L. R. *Electrochemical Method*; John Wiley & Sons: New York, 1980; p 107.
32. Vetter, K. J.; Manecke, G. *Z. Physik. Chem. (Leipzig)* **1950**, *195*, 337.
33. Harrison, L. W.; Cheny, G. E. *Talanta* **1968**, *15*, 1413.
34. Jacob, G.; Monet, C.; Tallec, A. *Electrochimica Acta* **1982**, *27*, 1417.