

페놀베타인 유도체합성 및 항암 활성검토: 프로토베르베린에서 C-환의 화학적 변환

우성주 · 박예진 · 황순호 · 홍유화 · 이마세 · 김동현 · 김인종 · 김신규*

경희대학교 약학대학

(Received May 6, 1996)

Synthesis of Phenolbetaine Derivatives and Their Anti-cancer Activity: Chemical Transformation of C-ring of Protoberberine

Seong-Ju Woo, Yea-Jin Park, Soon-Ho Hwang, You-Hwa Hong, Ma-Se Lee, Dong-Hyun Kim, In-Jong Kim and Sin-Kyu Kim*
College of Pharmacy, Kyung Hee University, Seoul 130-701, Korea

Abstract—The 13-hydroxyberberine(1), derived from berberinephenolbetaine, has been derivatized to furnish a variety of compounds such as 13-oxoberberine(2), 13-thioberberine(3), 13-chloroberberine(4), 13-(2-methylaziridine)berberine(5), and 13-carbolactoneberberine(6). Antitumor activity of these compounds was tested.

Keywords □ Pyridinium dichromate, Lawesson's reagent(LAS), Carbon dioxide(dryice), 2-methyl aziridine.

지금까지 검토결과^{1,2)} protoberberine의 C ring을 개열시키거나 spiro type으로 했을 때 antitumor와 antibacterial activity가 감소하였다. 따라서 본 논문에서는 protoberberine의 C ring을 유지하면서 C₈ 및 C₁₃에 관능기를 도입하여 구조활성관계를 검토할 목적으로 본 실험에 착수하였다. Betaine에 Grignard시약 처리후 가수분해하여²⁻³⁾ C₁₃-OH, C₈-CH₃도입한 (1)을 합성하고 pyridinium dichromate(PDC)로 산화하여 C₁₃=O(2)로 유도한후⁴⁾ LAS로 처리하여 C₁₃=S(3)를 합성하였다. 화합물 1을 SOCl₂로 작용하여 C₁₃-Cl(4)로 한후 2-methylaziridine으로 작용하여 C₁₃-2-methylaziridine(5)를 합성하였으며⁸⁾ Betaine에 carbon dioxide(dryice)를 작용하여 C₁₃과 C₈이 부가된 화합물 6을

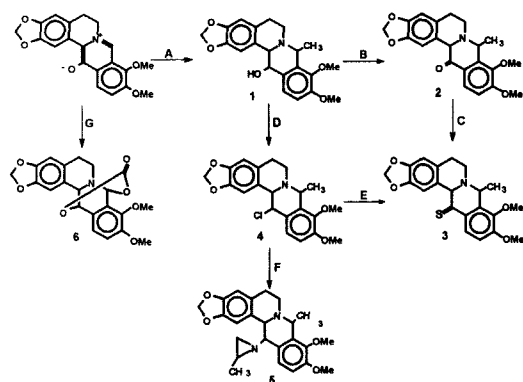
합성하였다^{9,10)}(Scheme 1). 위에서 합성한 화합물 1, 2, 3, 4, 5 및 6을 Antitumor activity를 검토하였기에 보고하는 바이다(Table 1).

실험방법

시약 및 기기

NMR은 Bruker AC-100F로 측정하고 TMS를 기준물질로 하고 용매는 CDCl₃를 사용하였다. IR은 Bruker IFS-28로 측정하였으며 용점은 Fluke 51로 측정하였다. 흡착제로 Alumina neutral 90, E. Merck와 Silica gel, kieselgel 60G, 70~230 mesh, E. Merck Co.제품을 사용하고, Berberine chloride는 Sigma Chemical Co. 제품과 유기용매는 Wako chemical Co.제품을 사용하였으며 LAS시약은 Aldrich Chemical Co.제품을, 기타 용매는 국산용매를 재증류하여 사용하였다.

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-961-0368 (팩스) 02-966-3885



Scheme 1—

Table 1—Cytotoxic activity of synthetic compounds

Compound	ED ₅₀ (mM)		
	P-388	SNU-1	MA-104
1	1	1	>1
2	0.78	0.35	>1
3	0.1	0.47	>1
4	0.5	0.056	>1
5	0.09	0.3	>1
6	>1	1	>1
Adriamycin	0.003	0.001	1

항암활성측정

암세포인 P-388과 SNU-1는 10% FBS RPMI 1640 배지에서, 정상세포인 MA-104는 10% FBS DMEM배지에서 5% CO₂/95% Air를 공급하면서 일정농도를 유지하도록 하여 37°C에서 배양하면서 실험하였다. ED₅₀은 시료를 소량의 DMSO에 녹여 5개 이상의 농도에서 MTT(Tetrazolium-based Colorimetric Assay)¹¹⁾ 검색법으로 측정하였다. Positive control로써 Adriamycin을 사용하였다.

5,6,8,14-Tetrahydro-2,3-methylenedioxy-9,10-dimethoxy-8-methyl-13-hydroxydibenzo[a,g]-quinolizine(1)의 합성

Betaine 500 mg(1.5 mmol)을 무수 THF에 용해하고 CH₃MgI 240 mg(1.5 mmol)를 가하고 5시간 reflux한후 물로 CH₃MgI의 반응을 정지하고 용매를 감압유거하여 얻은 잔사를 CH₂Cl₂로 추출하고 H₂O 5 ml로 수세후 무수 Na₂SO₄로 건조, 여과후 용매를 감압유거하여 얻은 잔사를 SiO₂-CH₂Cl₂: EtOAc (9:1)로 column chromatography로 분리하여 담황색의 결

정성 화합물 140 mg(28%)을 얻었다.

m.p. 130~132°C IRν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹, 3321(-OH)

NMR(in CDCl₃), δ: 7.25(1H, s, C₁₂-H), 7.01(1H, s, C₁₁-H), 6.91(1H, s, C₁-H), 5.93(2H, s, OCH₂O), 4.64(1H, d, J=8Hz, C₈-H), 4.34(1H, br-s, C₁₃-H), 3.88, 3.86(6H, s, OCH₃×2), 2.98(2H, s, C₅-H), 2.66~2.57(2H, m, C₆-H), 1.35(3H, d, J=6Hz, C₈-CH₃)

5,6,8,14-Tetrahydro-2,3-methylenedioxy-9,10-dimethoxy-8-methyl-dibenzo[a,g]-quinolizine-13-one (2)의 합성

화합물 1 140 mg(0.4 mmol)을 CH₂Cl₂ 70 ml에 용해하고 PDC 200 mg(0.5 mmol)을 가하고 실온에서 3시간 교반한 후 여과하여 PDC를 제거하고 용매를 감압유거하여 얻은 잔사를 CH₂Cl₂로 추출하고 H₂O 3 ml로 수세, 무수 Na₂SO₄로 건조, 여과 후 용매를 감압유거하여 얻은 잔사를 SiO₂-CH₂Cl₂: EtOAc(4:1)로 column chromatography로 분리하여 황색의 결정성 화합물 60 mg (43%)을 얻었다.

m.p. 110~112°C IRν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹, 1716(C=O)

NMR(in CDCl₃), δ: 7.43(1H, s, C₁₂-H), 7.26(1H, s, C₁₁-H), 6.82(1H, s, C₁-H), 6.58(1H, s, C₄-H), 3.96(3H, s, OCH₃), 3.88(3H, s, OCH₃), 3.76(1H, s, C₈-H), 3.02~2.80(4H, m, C₅-H, C₆-H), 1.69(3H, s, C₈-CH₃)

5,6,8,14-Tetrahydro-2,3-methylenedioxy-9,10-dimethoxy-8-methyl-13-thiodibenzo[a,g]-quinolizine (3)의 합성

화합물 2 50 mg(0.17 mmol)을 toluene 20 ml에 용해하고 LAS 20 mg(0.085 mmol)을 가한 후 2시간 reflux한후 50°C까지 냉각후 H₂O 5 ml를 가하고 3시간 reflux했다. 실온까지 방치한후 유기층을 분리하여 H₂O 3 ml로 수세, 무수 Na₂SO₄로 건조 여과한 후 용매를 감압유거하여 얻은 잔사를 SiO₂-CH₂Cl₂: EtOAc(9:1)로 column chromatography로 분리하여 갈색의 결정성 화합물 20 mg(33%)을 얻었다.

m.p. 136~138°C IRν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹, 1215(C=S)

NMR(in CDCl₃), δ: 7.22(1H, s, C₁₂-H), 7.13(1H, s, C₁₁-H), 6.92(1H, d, J=8Hz, C₁-H), 6.60(1H, s,

C₄-H), 5.90(2H, s, OCH₂O), 3.87(6H, bro-s, OCH₃×2), 3.20(2H, br-s, C₅-H), 2.70(1H, m, C₆-H), 1.57(3H, s, C₈-CH₃)

5,6,8,14-Tetrahydro-2,3-methylenedioxy-9,10-dimethoxy-8-methyl-13-chlorodibenzo[a,g]-quinolizine(4)의 합성

화합물 1 100 mg(0.3 mmol)을 무수 benzene 30 ml에 용해하고 SOCl₂ 35 mg(0.3 mmol)을 가한 후 3시간 reflux했다. 용매를 감압유거하고 잔사를 CH₂Cl₂로 추출하고 H₂O 5 ml로 수세, 무수 Na₂SO₄로 건조, 여과후 용매를 감압유거하고 잔사를 SiO₂-CH₂Cl₂:EtOAc(2:1)로 column chromatography로 분리하여 적색의 결정성 화합물 40 mg(40%)을 얻었다.

m.p. 164~166°C IRν_{max}^{KBr} cm⁻¹, 972(C-C)NMR(in CDCl₃), δ: 7.73(1H, s, C₁₂-H), 7.60(1H, s, C₁₁-H), 6.99(1H, s, C₁-H), 6.62(1H, d, J=4Hz, C₄-H), 6.01(2H, s, OCH₂O), 4.00(3H, s, OCH₃), 3.96(3H, s, OCH₃), 2.78(2H, m, C₅-H), 1.25(3H, s, C₈-CH₃)

5,6,8,14-Tetrahydro-2,3-methylenedioxy-9,10-dimethoxy-8-methyl-13-(2-methylaziridine)-dibenzo[a,g]-quinolizine(5)의 합성

화합물 4 30 mg(0.1 mmol)을 무수 benzene 20 ml에 용해하고 2-methyl aziridine 6 mg(0.1 mmol)과 Et₃N(5 mg)을 무수 benzene(10 ml)에 용해한 용액 2적을 적가한후 3시간 reflux했다. 용매를 감압유거하여 얻은 잔사를 CH₂Cl₂로 추출하고 H₂O로 세척하고 무수 Na₂SO₄로 건조 여과후 용매를 감압유거하고 잔사를 SiO₂-CH₂Cl₂:EtOAc(4:1)로 column chromatography로 분리하여 갈색의 결정성 화합물 12 mg(30%)을 얻었다.

m.p. 100~102°C, IRν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹, 1255(C-N)

NMR(in CDCl₃), δ: 7.26(1H, s, C₁₂-H), 7.10(1H, s, C₁₁-H), 6.67(1H, m, C₁-H), 6.11(1H, s, C₄-H), 6.01(2H, s, OCH₂O), 4.18(1H, s, C₁₃-H), 3.93(3H, s, OCH₃), 3.87(3H, s, OCH₃), 3.04(2H, t, J=5.9Hz, C₅-H), 1.86~1.52(2H, m, aziridine-H), 1.47(3H, br-s, aziridine-CH₃), 1.26(3H, s, C₈-CH₃)

9,10-Dimethoxy-2,3-methylenedioxy-dibenzo[a,g]-

quinolone-8,13-carbolactone(6)의 합성

Berberinephenolbetaine 100 mg(0.3 mmol)을 CH₂Cl₂ 30 ml에 용해하고 질소기류 중에 carbon dioxide (dryice) 1.5 g(34 mmol)을 가했다. 실온에서 1시간 교반하여 용매를 감압유거하여 얻은 잔사를 Al₂O₃-EtOAc로 column chromatography로 분리하여 황색의 결정성 화합물 20 mg(20%)을 얻었다.

m.p. 153~155°C IRν_{max}^{CHCl₃} cm⁻¹, 3015, 2927 (OC-H₃), 1695(C=O)

NMR(in CDCl₃), δ: 8.38(1H, d, J=9.1 Hz, C₁₂-H), 7.80(1H, s, C₄-H), 7.37(1H, d, J=9.1 Hz, C₁₁-H), 5.97(2H, s, OCH₂O), 4.50(2H, d, J=5.9 Hz, C₅-H), 4.27(1H, s, C₈-H), 5.91(1H, s, C₁₃-H)

결과 및 고찰

Berberinephenolbetaine을 CH₃MgI로 처리후 포화 NH₄Cl용액으로 분해하여 화합물(1)을 얻을 수 있었으나 수득량은 좋지 않았으며 C₁₃=S와 C₁₃-(2-methylaziridine)도 예상대로 합성할 수 있었다. Table에서 표시한바와 같이 화합물(5)가 P-388에서 0.09 mM이며 SNU-1에서 0.3 mM이었으나, 화합물(4)는 P-388에서 0.5 mM, SNU-1에서 0.056 mM로 계속 검토할 것이며 기타 화합물은 Table 1에 표시된바와 같다.

결론

화합물 1에서 6까지의 합성에서 2를 제외한 모든 화합물의 수득량이 낮았다. 따라서 이를 향상 시키는 방법이 검토되어야 한다. 화합물 6과 1은 반응중 수분의 존재가 수득량을 감소시키므로 조작중 완전방습이 요구되며 6합성에서 carbon dioxide는 다소 과량사용 하는 것이 수득량이 증가되었다. 화합물 3의 제조에서 C₁₃=O에 L.A.S를 작용하는 방법이 C₁₃-Cl에 thiourea를 작용하는 방법보다 수득률에 있어 우수하였다. 항암활성에 있어 화합물 5와 4가 다른 화합물에 비해 높았다.

문헌

- 1) Hwang, S. H., Kim, J. H., Yim, H. Y. and Kim, S. K. : Synthesis of 8-methyl-8,14-cycloberberine derivatives. *Yakhak Hoeji* **38**, 451 (1994).

- 2) (a) Hwang, S. H., Yim, H. Y., Woo, S. J., Kim, J. H. and Kim, S. K. : Synthesis of protoberberine Related compounds and its activities. *Yakhak Hoeji* **39**, 36 (1995).
- (b) Kim, S. K., Kim, D. H., Chung, K. H., Hwang, S. H. and Kim, J. H. : Synthesis of protoberberine related compound and their Antifungal activities. *Yakhak Hoeji* **38**, 91 (1994).
- (c) Lee, M. S., Chung, S. H., Kim, D. H., Choung, S. Y. and Kim, S. K. : Synthesis of protoberberine derivatives and studies on their biological activity. *Yakhak hoeji* **34**, 296 (1990).
- 3) Hanaoka, M., Kim, S. K., Inoue, M., Nagami, K., Shimada, Y. and Yasuda, S. : Chemical transformation of protoberberines(VII). *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 1434 (1985).
- 4) Hanaoka, M., Cho, W. J., Marutani, M. and Mukai, C. : Chemical transformation of protoberberines(XI). *Chem. Pharm. Bull.* **35**, 195 (1987).
- 5) Yoshida, T., Moriyama, Y. and Nakano, S. : Fluorescence properties of 2-substituted 6-7- or 8-methoxyquinoline-4-carboxylic acid derivatives. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 1322 (1992).
- 6) Hori, N., Tsukamoto, G., Imamura, A., Ohashi, M., Saito, T. and Yoshino, K. : Novel disease-modifying antirhumatic drugs. 1. Synthesis and antiarthritic activity of 2-(4-methylphenyl)benzothiazoles. *Chem. Pharm. Bull.* **40**, 2387 (1992).
- 7) Higashino, T., Takemoto, M. and Hayashi, E. : Reaction of 4-aryloquinazolines with sodium hydroxide. *Chem. Pharm. Bull.* **33**, 1351 (1985).
- 8) Inoue, M., Takahashi, M., Hanaoka, M. and Yasuda, S. : Ring diversion of protoberberine alkaloids conversion of berberine into non-naturally occurring 11,12-oxygenated protoberberines. *Heterocycles* **19** (1982).
- 9) Kim, S. K., Kwon, C. H., Yook, C. S., Rho, Y. S., Seo, S. H., Choung, S. Y., Chung, S. H., Kim, D. H. and Hwang, S. H. : Synthesis of protoberberine derivatives and their biological activities. *Yakhak Hoeji* **36**, 1 (1992).
- 10) Hanaoka, M., Mitsuoka, T., Yasuda, S. and Kim, S. K. : A convenient transformation of spirobenzylisoquinolins to dehydrophthalide isoquinolines. *Chem. Pharm. Bull.* **36**, 3739 (1988).
- 11) 박재갑 : 전통약물로부터 신약개발 연구법 (항암제의 검색방법). 서울대학교 천연물 과학연구소, p.174 (1993).