

항암제로서의 (±)-3-데옥시제리쿠드라닌 A의 설계 및 합성

최윤정 · 심필종 · 김희두*

숙명여자대학교 약학대학

(Received October 1, 1996)

Design and Synthesis of (±)-3-Deoxygericudranin A as an Antitumour Agent

Yoon-Jung Choi, Pil-Jong Shim and Hee-Doo Kim*

College of Pharmacy, Sookmyung Women's University,
Chungpa-dong 2-ka, Yongsan-ku, Seoul 140-742, Korea

Abstract—(±)-3-Deoxygericudranin A was designed and synthesized for the development of novel antitumour agent and for the elucidation of the effect of 3-hydroxyl group in gericudranin A on antitumour activity. 2,4,6-Trihydroxyacetophenone was converted to 3-deoxygericudranin A in 5 steps via sequential protection, aldol condensation, Michael type-cyclization, regioselective C-benylation and deprotection.

Keywords □ 3-deoxygericudranin A, gericudranin A, antitumour activity, synthesis, Michael type cyclization, regioselective C-benylation.

꾸지뽕나무(*Cudrania tricuspidata*)는 우리나라에서 예로부터 민간 상용약초로 그 뿌리와 줄기를 다려 먹으면 간암치료에 유효하다고 전해 내려오고 있다.¹⁾ 또한 중국 문헌에 의하면 잎은 실험동물의 Ehrlich 암종의 암주에 대해 일정한 증식억제 작용을 나타내며 *in vitro*에서는 식도암주에 대해 세포 독작용을 나타내는 약리작용이 있어 임상적으로 위암, 식도암, 결장암, 직장암과 같은 소화관 악성 종양에 이용된다고 보고되고 있다.²⁾

최근 우리나라에서 처음 분리된 꾸지뽕나무 유래 Flavonoid류인 gericudranin A는³⁾ 독성이 적어 안전하며 항암, 항산화 활성을 나타내는 물질로 항암제로서의 개발이 기대되는 물질이나 추출에 의한 방법으로는 양적 확보가 어렵고, 보다 증강된 항암성이 요구되는 등의 문제점을 안고 있다. 이에 저자들은 gericudranin A의 전임상 및 임상시험에 필요한 양적인 확보 및 항암성이 향상된 유도체 합성을 위한 합성적 탐색의 일환으

로 (±)-gericudranin A의 효율적인 전합성 방법을 개발하여 보고한 바 있다.⁴⁾ Gericudranin A는 구조적으로 C-benylation된 dihydroflavonol핵을 가진 물질이다(Fig. 1). 수많은 flavonoid계 화합물이 분리, 합성되어 왔으나⁵⁾ C-benzylated flavonoid는 흔히 않는 구조로서 공통적으로 flavanone의 골격을 가지고 있으며 대부분 항암활성을 지닌 것으로 보고되었다.⁶⁾ 본 연구에서는 gericudranin A의 구조-활성 상관 관계를 규명할 목적의 일환으로 gericudranin A의 dihydroflavonol핵의 3번위치의 hydroxyl기를 제거함으로써 flavanone 골격을 지닌 3-deoxygericudranin A를 설계, 합성하고자 하였다.

실험방법

2,4,6-Trihydroxyacetophenone은 Aldrich사의 제품으로 98% 함량의 것을 사용했고 3,4-dimethoxybenzaldehyde(veratraldehyde)는 Aldrich사의 99% 함량의 것을 사용하였다. THF(tetrahydrofuran)는 질

* 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 02-710-9567 (팩스) 02-703-0736

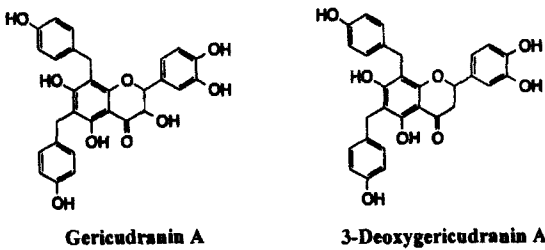


Fig. 1 — Structure of Gericudranin A and 3-Deoxygericudranin A.

소 기류하에서 benzophenone sodium ketyl로 부터 증류하여 사용하였고 1,4-dioxane, 1,2-dichloroethane 및 *p*-methoxybenzyl alcohol은 CaH₂에서 증류하여 사용하였다. 핵자기 공명(NMR) 스펙트라는 Bruker WP-80 SY, Varian Gemini 300BB를 이용하여 TMS (tetramethylsilane)를 내부 표준 물질로 하여 측정하였으며, 화학적 이동(chemical shift)은 δ 단위로, coupling constant는 Hz로 나타내었다. IR 스펙트라는 Shimadzu IR-435 분광광도계로 측정하였으며, cm⁻¹로 표시하였다. Mass 스펙트라는 VG Trio-2 GC-MS를 사용하여 70eV의 이온화 전압에서 EI로 측정하였다. 녹는점은 Büchi 535 녹는점 측정기와 SYBRON Thermolyne 로 측정하였다. 박층 크로마토그래프(TLC)는 silica gel(Kieselgel 60F₂₅₄, Merck)를 사용하였고, 컬럼 크로마토 그래피는 silica gel (Kieselgel 60, 230~400 mesh, Merck)를 사용하였다.

2',4'-Bis(methoxymethoxy)-6'-hydroxyacetophenone(1)의 합성 - 저자들이 보고한 문헌 기지의 방법으로 합성하였다.⁴⁾

3,4-Dimethoxy-2',4'-bis(methoxymethoxy)-6' hydroxychalcone의 합성 - (2)2',4'-Bis(methoxymethoxy)-6'-hydroxyacetophenone (1) (892 mg, 3.48 mmol)을 methanol 과 water 70 ml 혼합액에 녹이고 KOH (3.9 g, 69.6 mmol)를 소량씩 가하고, 이어서 3,4-dimethoxybenzaldehyde(867 mg, 5.22 mmol)을 가하고 교반하면서 TLC로 기질이 거의 없고 부반응이 적을때 반응을 종결시켰다. 용매를 감압농축하여 제거하고 benzene으로 회석하고 5% HCl로 중성화 한 다음 물, 포화 식염수 순으로 세척하고 무수 sodium sulfate 로 건조, 여과 후 얻은 여액을 감압농축하여 얻은 잔사를 column chromatography(hexane : ethyl acetate =6:1→3:1)를 정제하여 황색 고체 1.2 g(86%)

을 얻었다: R_f 0.53 (hexane/ethyl acetate=1); mp 94~95°C; IR(KBr) cm⁻¹ 3102, 3001, 2950, 1610, 1260, 1150; ¹H-NMR(300 MHz, CDCl₃) δ 3.48(s, 3H), 3.54(s, 3H), 3.93(s, 3H), 5.19(s, 2H), 6.22(d, 1H, J=15.5 Hz), 6.32(d, 1H, J=2.4 Hz), 6.90(d, 1H, J=7.8 Hz), 7.14~7.22(m, 2H), 7.76(d, 1H, J=15.5 Hz), 13.9(s, 1H); ¹³C-NMR(75 MHz, CDCl₃) δ 192.72, 167.30, 163.30, 151.24, 149.26, 142.80, 128.53, 125.29, 122.83, 111.26, 110.26, 97.57, 95.36, 94.77, 94.08, 56.95, 56.39, 55.95, 55.77; MS(EI) *m/z*(relative intensity) 404(M⁺,70), 373, 359(60), 331(50), 195(100), 151(47).

5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavanone의 합성 (3)

- 3,4-Dimethoxy-2',4'-bis(methoxymethoxy)-6'-hydroxychalcone (2) (120 mg, 29.7 mmol)을 THF와 methanol의 혼합액 30 ml에 녹이고 *c*-HCl를 2방울을 가한 다음 reflux 를 하고 TLC로 반응정도를 확인한 후 다시 *c*-HCl를 더 가하는 식으로 얼고자 하는 물질이 많을 때까지 교반하고 종결시켰다. 용매를 감압 증류하여 제거하고 에틸 아세테이트로 회석한 후에 aq. NaHCO₃ 물, 포화식염수 순으로 세척하고 무수 sodium sulfate로 건조한 후에 여액을 여과하고 감압농축하여 얻은 잔사를 column chromatography (hexane : ethyl acetate=3:1)로 정제하여 흰색 고체 80 mg (85%)을 얻었다: R_f 0.45(hexane/ethyl acetate=1); mp 207°C; IR (KBr) cm⁻¹ 3402, 2995, 1622, 1508, 1118, 1020; ¹H-NMR(80 MHz, DMSO-*d*₆/CDCl₃) δ 2.49~2.82(m, 2H), 3.77(s, 6H), 5.46(dd, 1H, J=12, 3 Hz), 5.89(s, 2H), 6.98~7.11(m, 3H), 10.74(s, 1H), 12.12 (s, 1H); MS (EI) *m/z*(relative intensity) 316(M⁺, 88), 164(72), 151(100)

5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxy-6,8-bis(p-methoxybenzyl)flavanone의 합성 (4)

- 5,7-Dihydroxy-3',4'-dimethoxyflavanone (3) (2.1 g, 6.63 mmol)을 무수 1,4-dioxane 120 ml에 녹이고 *p*-methoxybenzyl alcohol(3.7 ml, 26.5 mmol)을 가한 후 60°C로 유지하면서 교반후 BF₃·etherate(6.5 ml, 46.4 mmol)를 가하고 밤새 교반한 후, 반응액에 물을 가하여 종결한다. 용매를 감압제거후 에틸 아세테이트로 회석하고 이 유기층을 물, 포화 식염수 순으로 세척한 다음 무수 sodium sulfate 로 건조한 뒤 여액을 감압 농축 하여 얻은 잔사

를 column chromatography (hexane : ethyl acetate=5:1→3:1)로 정제하여 흰색 고체 786 mg(21%)을 얻었다 : R_f 0.52 (hexane/ethyl acetate=1): mp 183°C: IR (KBr) cm^{-1} 3205, 2905, 1615, 1602, 1505, 1242, 1145: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, $\text{DMSO-}d_6/\text{CDCl}_3$) δ 2.79(dd, 1H, $J=17.1$ Hz, $J=3$ Hz), 3.09(dd, 1H, $J=16.8$ Hz, $J=13.2$ Hz), 3.60~3.92(m, 12H), 5.39(dd, 1H, $J=12.8$ Hz, $J=2.7$ Hz), 6.71~7.15(m, 1H), 9.62(s, 1H), 12.40(s, 1H): $^{13}\text{C-NMR}$ (75 MHz, $\text{DMSO-}d_6/\text{CDCl}_3$) 194.63, 160.66, 157.94, 156.61, 155.86, 147.41, 131.45, 129.91, 127.91, 127.56, 127.49, 116.91, 111.79, 109.86, 108.29, 106.68, 105.74, 100.55, 79.40, 54.18, 54.06, 54.02, 53.39, 41.25, 25.69, 25.02: MS(EI), m/z (relative intensity) 556(M^+ , 100), 447(26), 255(43), 151(53), 108(58).

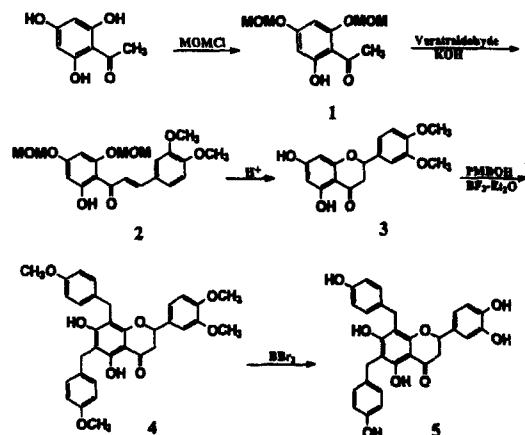
3',4',5,7,-Tetrahydroxy-6,8-bis(*p*-hydroxybenzyl)flavanone의 합성 (5) - 1,2-Dichloroethane 50 ml에 BBr_3 (CH_3) $_2\text{S}$ (10 g, 33.8 mmol)을 가하고 1,2-dichloroethane 10 ml에 녹인 5,7-dihydroxy-3',4'-dimethoxy-6,8-bis(*p*-methoxybenzyl)flavanone (4) (786 mg, 1.41 mmol)을 서서히 가하고 N_2 gas 치환 상태에서 18시간 이상 가열환류한 다음 용매를 감압제거하고 ether 로 희석한다. 이 ether 층을 포화 중조수로 세척하고 1N-NaOH(5×10 ml)로 추출하고 수층을 5% HCl로 산성화 한 후에 다시 ether로 추출한다. 유기 층을 물, 포화 식염수 순으로 세척하고 무수 sodium sulfate 로 건조하고 여액을 감압농축하여 column chromatography ($\text{MeOH} : \text{CH}_2\text{Cl}_2 = 1:30 \rightarrow 1:10$)를 행하여 일차 정제후 preparative TLC로 이차 정제하여 202 mg(29%)을 얻었다: R_f 0.47 ($\text{CHCl}_3/\text{MeOH}=5$): mp 150°C: IR(NaCl, THF) cm^{-1} 3295, 2908, 2890, 1612, 1140: $^1\text{H-NMR}$ (300 MHz, CD_3OD) 2.70(dd, 1H, $J=17.2$ Hz, $J=2.9$ Hz), 3.04(dd, 1H, $J=17.2$ Hz, $J=12.9$ Hz), 3.81(s, 2H), 3.85(s, 2H), 5.23(dd, 1H, $J=12.8$ Hz, $J=2.6$ Hz), 6.59~7.03(m, 11H): MS(EI), m/z (relative intensity) 500(M^+ , 0.2), 394(20), 165(21), 137(100), 78(50).

결과 및 고찰

Gericudranin A 유도체들의 설계에 있어서의 기본 방향은 gericudranin A의 구조 중 각 ring 에 존재하

는 hydroxyl group들이 약리작용에 미치는 영향을 알아보고자 하였다. 즉, 각 ring에 OH group들은 벤젠환의 전자밀도를 높이는 역할을 하며, 반대로 화합물의 lipophilicity는 감소시키고, 생체내에서 산화, 환원 반응을 통해 퀴논 형태로의 변화를 예상할 수가 있으며 대사과정에서 아세틸화, 술폰화, 글루쿠론산 포합등의 여러형태로 될 것을 착안하여 OH group이 없을 때나 다른 group으로 변화시킬때에 위와 같은 요인들의 영향을 고찰함으로써 구조와 약리활성 상관관계를 규명하기 위해 먼저 천연에서 주로 발견되는 flavanone핵을 가진 3-deoxygericudranin A를 합성하게 되었다. C-benzylated flavanone합성에 있어서 중요한 관점이 되는 것은 flavanone의 A/B환 및 carbon/oxygen에 대한 위치 선택적인 benzylation이다. 이러한 선택적 합성전략은 저자들에 의해 이미 개발된 (\pm)-gericudranin A의 합성과 유사한 경로로 합성을 하였다 (Scheme 1).

출발물질인 2,4,6-trihydroxyacetophenone의 3개의 phenolic OH기중 아세틸기와 수소결합을 하고 hydroxyl기를 제외한 두 개의 OH기를 완전한 조건에서 methoxymethyl ether 형태로 보호하고 veratraldehyde와 aldol 축합을 하여 chalcone 화합물 2를 합성하였다. 이 chalcone 화합물을 methanolic HCl로 처리하면 보호기인 MOM group이 제거됨과 동시에 분자내 Michael 부가반응에 의한 환화반응이 일어나 flavanone ring을 구축할 수 있었다. 이렇게 하여 생긴 flavanone 3에 Friedel-Crafts dibenylation을 행하면 전자 밀도가 상대적으로 높은 A환에 위치선택



Scheme 1 — Synthesis of 3-Deoxygericudranin A.

적인 dibenzylation이 된 화합물 4를 얻을 수 있었다. 마지막으로 보호기인 methyl기를 BBr₃로 제거함으로써 목적화합물인 3-deoxygericudranin A를 합성할 수 있었다.

결 론

Gericudranin A의 구조-활성 상관 관계를 규명할 목적의 일환으로 gericudranin A의 dihydroflavonol핵의 3번 위치의 hydroxyl기를 제거함으로써 flavanone골격을 지닌 3-Deoxygericudranin A를 합성하고자 하였다. 2,4,6-trihydroxyacetophenone을 출발물질로 하여 위치 선택적으로 보호기를 도입한 뒤 aldol축합을 하여 chalcone 화합물 2를 합성하고 산성조건에서 보호기를 제거함과 동시에 환화반응을 수행하여 flavanone 화합물 3을 얻었다. 위치선택적인 Friedel-Crafts dibenzylation을 행한 뒤 보호기를 제거함으로써 5공정에 거쳐 목적화합물인 3-deoxygericudranin A (5)를 합성하였다. 수종의 암세포주에 대해 3-deoxygericudranin A는 gericudranin A보다 전체적으로 증강된 세포독성을 나타내었으며 이에 대한 자세한 결과는 차후 다른 유도체의 세포독성과 함께 발표할 예정이다.

감사의 말씀

본 연구는 숙명여자대학교 95' 특별 교비 연구비의 지원에 의해 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문 헌

1) a) 문화방송 : 한국 민간요법 대전, 금박출판사, P. 31 (1987). b) Park, J. C., Young, H. S. and Choi, J. S. : Constituents of *Cudrania tricuspidata*, **36**, 40 (1992). c) Young, H. S., Park, H. J. and Choi, J.

S. : Chemical study on the stem of *Cudrania tricuspidata*. Arch. Pharm. Res., **12**, 39 (1989).
 2) a) Shanghai Science and Technological Publisher : The Dictionary of Chinese Drugs, Shou-gakugan, Tokyo, Vol. 2, p. 2383 (1985). b) 福島靑靑: 항암 중약의 임상응용, 의치약출판사, 동경, P. 68 (1988).
 3) a) Lee, I-K., Kim, C-J., Song K-S. Kim, H-M., Koshino, H., Uramoto, M. and Yoo, I-D. : Cytotoxic Benzyl Dihydroflavonols from *Cudrania*. *Phytochemistry*, **41**, 213 (1996). b) Lee, I-K., Kim, C-J., Song, K-S., Kim, H-M., Yoo, I-D., Koshino, H., Esumi, Y. and Uramoto, M. : Two Benzylated Dihydroflavonols from *Cudrania tricuspidata*. *J. Nat. Prod.*, **58**, 1614 (1995).
 4) Choi, Y-J., Shim, P-J., Ko, K-S. and Kim, H-D. : Total Synthesis of (±)-Gericudranin A. *Heterocycles*, **43**, 1223 (1996).
 5) Harborne, J. B. : The Flavonoids: Advances in Research since 1980, Chapman and Hall, (1988).
 6) a) Franz, J. E. and Pearl, H. K. : Uvaretin and Isouvaretin. Two novel Cytotoxic C-Benzylflavanones from *Uvaria Chamae* L. *J. Org. Chem*, **41**, 1297 (1976). b) Cole, J. R., Torrance, S. J. and Wiedhopf, R. M. : Uvaretin, a New Antitumor Agent from *Uvaria acuminata*(Annonaceae). *J. Org. Chem.*, **41**, 1852 (1976). c) Hufford, C. D. and Oguntimein, B. O. : New Dihydrochalcone and Flavanones from *Uvaria angolensis*. *J. Nat. Prod.*, **45**, 337 (1982). d) Lasswell, Jr. W. L. and Hufford, C. D. : Cytotoxic C-Benzylated Flavonoids from *Uvaria chamae*. *J. Org. Chem.*, **42**, 1295 (1977). e) Hufford, C. D. and Lasswell, Jr. W. L. : Uvarinol: A Novel Cytotoxic Tribenzylated Flavanone from *Uvaria chamae*. *J. Org. Chem.*, **44**, 4709 (1979).