

# Vilsmeier-Haack 반응을 이용한 Camostat Mesylate의 합성법 연구

김동년 · 김석찬<sup>†</sup>

국민대학교 응용화학과  
(2022년 6월 23일 접수, 2022년 7월 14일 수정, 2022년 7월 14일 채택)

## A Study on The Synthesis of Camostat Mesylate Using Vilsmeier-Haack Reaction

Dong Nyeon Kim and Seok Chan Kim<sup>†</sup>

Department of Applied Chemistry, Kookmin University, Seoul 02707, Republic of Korea  
(Received June 23, 2022; Revised July 14, 2022; Accepted July 14, 2022)

### 초 록

만성 췌장염 치료제로 가장 널리 사용되고 있는 camostat mesylate 합성의 key step에 대한 연구를 수행하였다. Camostat mesylate는 두 중간체인 GBA (4-guanidinobenzoic acid hydrochloride)와 DOHA [2-(dimethylamino)-2-oxoethyl-2-(4-hydroxyphenyl)acetate]의 esterification 반응을 통해서 합성되는데, 기존의 esterification 방법 적용 시에는 낮은 수율과 고가의 시약으로 인한 문제점이 제기되어 왔다. 이런 문제점을 극복하고자 본 연구에서 Vilsmeier-Haack 반응을 이용하여 GBA의 acid 작용기를 activating하여 DOHA와 coupling하여 80%의 높은 수율로 Camostat mesylate를 제조할 수 있는 새로운 경제적인 합성법을 개발하였다.

### Abstract

A key step in the synthesis of camostat mesylate, which is most widely used as a treatment for chronic pancreatitis, was conducted. Camostat mesylate was synthesized through the esterification reaction of two intermediates, GBA (4-guanidinobenzoic acid hydrochloride) and DOHA [2-(dimethylamino)-2-oxoethyl-2-(4-hydroxyphenyl)acetate]. In order to overcome the problem raised due to the low yield and expensive reagents, a new economical synthesis method was developed that can produce camostat mesylate with a high yield of 80% by activating the acid functional group of GBA using the Vilsmeier-Haack reaction and coupling it with DOHA.

**Keywords:** Chronic Pancreatitis, Camostat mesylate, Esterification, Vilsmeier-Haack reaction, Activating reagent

## 1. 서 론

췌장(Pancreas)은 이자로도 불리는 소화를 담당하는 장기로, 췌장의 역할로는 (1) Amylase, Protease와 같은 소화 효소 분비의 외부비 기능을 담당하며, (2) Glucagon, Insulin과 같은 혈당 조절 호르몬 생성의 내분비 기능을 담당한다[1,2]. 췌장염(Pancreatitis)은 췌장에 염증이 생기는 염증성 질환으로, 급성 췌장염과 만성 췌장염으로 나뉘는데, 급성 췌장염은 췌장 내에 염증이 발생했다가 호전되면 췌장이 정상 상태로 돌아오는 반면, 만성 췌장염은 반복적이고 지속적인 세포 손상으로 췌장에 조직학적 변화를 일으켜 정상으로 돌이킬 수 없는 형태를 나타낸다. 일반적으로 급성 췌장염을 앓는 환자의 10~20% 정도가 원인에 관계없이 만성 췌장염으로 악화되며, 특히 만성 췌장염은 췌장 세포가 터지면서 나오는 여러 활성화된 소화 효소 및 물질로 인해 주변 장기의 손상을 초래하여 췌장에 국한된 질환이 아닌 전신 질환으로 취급하

는 질병이다[3]. 현재까지 췌장염에 대한 근본적인 치료제는 개발되지 못하여, 통증 및 증상 경감을 위한 약제를 사용하는 실정이다[4].

췌장염이 발생하는 주 발병 원인은 췌장 내에서 트립신의 전구체인 트립시노겐(Trypsinogen)이 비활성 상태로 합성되어 소화 기능이 없다가 소장으로 분비된 뒤 엔테로키나아제(Enterokinase)라는 소화 효소에 의해 트립신으로 활성화되기 때문에 소장 속의 음식물은 소화시켜도 췌장 자신은 소화되지 않지만 트립시노겐이 어떠한 원인으로 인해 췌장 내에서 트립신으로 활성화되면서 췌장 내 다른 소화 효소들도 차례로 활성화되고 췌장 세포를 공격하는 과잉인 자가소화가 발생하면서 췌장 내에 염증이 생기게 되는 것으로 알려져 있다[5].

Figure 1에 나타난 바와 같이 현재까지 알려진 췌장염 치료제는 전부 트립신 inhibitor들로서 첫 트립신 억제제인 Aprotinin이 개발된 이래로 관련 합성 의약품인 Nafamostat mesylate, Gabexate mesylate, Ulinastatin 등이 개발되었지만, 대부분의 트립신 활성 억제제는 구조적 문제로 위산이나 여러 소화 효소에 불안정하거나 체내 반감기가 짧기 때문에 반드시 주사를 통해 정맥 투여를 해야 한다. 하지만 증상 발생 후, 현장에서 투약되기까지 시간이 소모되고, 투여된 후에도, 미세순환 장애로 인해 트립신 활성 억제 효과가 낮다는 단점을 가지고

<sup>†</sup> Corresponding Author: Kookmin University  
Department of Applied Chemistry, Seoul 02707, Republic of Korea  
Tel: +82-2-910-4766 e-mail: sckim@kookmin.ac.kr

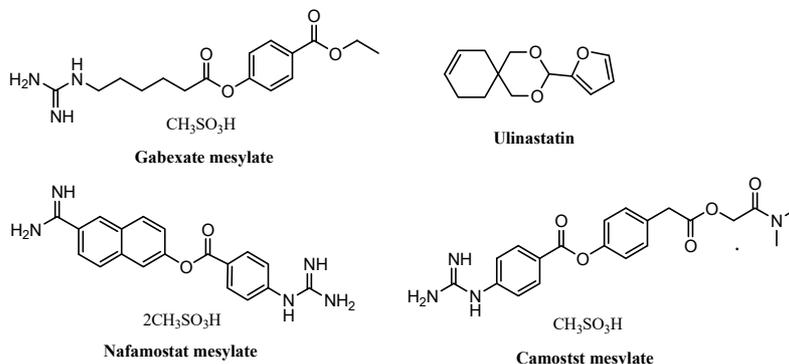


Figure 1. Trypsin inhibitors for pancreatitis.

있었으며, 그로 인해 만성 췌장염 환자에게는 적용이 불가능하였다 [6].

Camostat mesylate는 위의 단점을 개선한 합성 의약품으로 경구 투여가 가능하고, 트립신 및 여러 소화 효소를 억제하는 작용이 타 약제에 비해 100~1000배 높은 것으로 알려져 있다. 또한, 약제 후보군이 적은 만성 췌장염에 적용 가능하며, 위 절제 후 발생하는 역류성 식도염의 치료제로도 널리 사용되고 있다[7].

본 연구에서는 camostat mesylate 합성의 key step인 GBA (2)와 페놀 화합물 DOHA (3)와의 에스테르 형성 반응을 탐구하였다. 기존의 알려진 방법에서는[8] GBA (2)와 thionyl chloride 및 oxalic chloride를 사용하여 chloride 화합물로 activating 하여 DOHA (3)와 coupling을 시도하였으나 50%의 낮은 수율로 만족할 만한 결과를 얻지 못하였다. 이 문제점을 해결하고자 본 연구에서는 DMF와 thionyl chloride를 사용한 Vilsmeier-Haack 반응을[9] 이용하여 80%의 높은 수율로 camostat mesylate를 합성할 수 있었다.

## 2. 실험

### 2.1. 기기 및 시약

반응 실험에 이용된 시약 및 용매는 한국 MERCK 사, Tokyo Chemical Industry 사, 삼진화학의 제품을 정제 없이 사용하였다.

합성한 화합물의 구조분석을 위해  $^1\text{H-NMR}$  (400 MHz, Bruker),  $^{13}\text{C-NMR}$  (100 MHz, Bruker), 분석용매는 Cambridge Isotope Laboratories 사의  $\text{DMSO-d}_6$ ,  $\text{CDCl}_3\text{-d}_1$ 을 사용하여 분석하였다. FT-IR spectrometer (FTS165, Bio-Rad)를 사용하였고, 순도 분석을 위해 사용된 HPLC (High Performance Liquid Chromatography)는 Agilent Technologies 사의 1260 Infinity II LC system을 통해 분석하였다. 원소 분석은 한국고분자시험연구소에 의뢰하여 C, H, N은 elemental analyzer (EA2000, Thermofinnigan)를 O는 elemental analyzer (EA1112, Thermofinnigan)를 사용하여 분석하였다.

### 2.2. 합성

#### 2.2.1. Guanidinobenzoyl chloride hydrochloride (4)의 합성

Mechanical stirrer와 condenser가 장착된 3구 등근 플라스크에 4-guanidinobenzoic acid hydrochloride (25.9 g, 0.120 mol), EA (130 g), DMF (4.38 g, 0.06 mol)을 투입하고 45 °C로 승온한다. 승온 후 thionyl chloride (28.6 g, 0.240 mol)을 천천히 투입하고 12시간동안 교반 하면서 반응을 진행한다. 반응 종료 후, 고체를 여과하여 제거한 후 감압 증류하여 백색 고체인 4-guanidinobenzoyl chloride hydro-

chloride (27.2 g, 수율 97%, 순도 94%)를 얻었으며, 추가 정제 과정 없이 다음 반응으로 바로 진행하였다.

#### 2.2.2. Camostat mesylate (1)의 합성

반응기에 2-(dimethylamino)-2-oxoethyl-2-(4-hydroxy phenyl) acetate (24.2 g, 0.102 mol)과  $\text{CH}_3\text{CN}$  (48 g)을 투입하고 교반하여 상온에서 고체를 용해시킨다. 용해 후, 4-guanidino benzoyl chloride hydrochloride (27.2 g), pyridine (16.1 g, 0.204 mol)을 투입한다. 이후, 40 °C로 승온하여 2시간 동안 반응 후, 반응 용매를 감압 농축을 통해 최대한 제거한다. 물(25 mL)을 넣고 -10 °C로 냉각하면서 결정화를 진행하여 백색 고체인 Camostat hydrochloride를 얻었다(37.7g).

Hydrochloride염을 mesylate염으로 교환하기 위하여 반응기에 NaOH (3.64 g, 0.091 mol)과 물(150 mL)을 넣고 상온에서 methanesulfonic acid (8.74 g, 0.091 mol)를 서서히 투입하여 pH를 7로 맞춘다. 이후, Camostat hydrochloride (37.7 g, 0.0867 mol)를 넣고 용해시킨다. 고체가 용해된 후, 1시간 동안 상온에서 교반하고, 0~5 °C로 냉각하면서 고체화를 진행하여 백색 고체인 camostat mesylate를 얻었으며 최종적인 정제는 DMF (100 g)을 사용하여 80 °C에서 완전히 용해시킨 후 acetone (150 g)을 적가하고 0~5 °C로 냉각하면서 재결정화를 진행하여 백색 고체인 camostat mesylate를 얻었다(40.8 g, 81%, 순도 99.9%).

원소 분석: Calcd. for  $\text{C}_{21}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_8\text{S}$ ; C, 51.00; H, 5.30; N, 11.33; O, 25.88; S, 6.48. Found: C, 50.78; H, 5.32; N, 11.55; O, 25.79.  $^1\text{H NMR}$  (400 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  10.15 (s, 1H), 8.16 (d, 2H,  $J = 8.72$ ), 7.80 (s, 4H), 7.44-7.39 (m, 4H), 7.23 (d, 2H,  $J = 8.56$ ), 4.81 (s, 2H), 3.81 (s, 2H), 2.90 (s, 3H), 2.81 (s, 3H), 2.38 (s, 3H),  $^{13}\text{C NMR}$  (100 MHz,  $\text{DMSO-d}_6$ ):  $\delta$  170.7, 165.8, 164.0, 155.3, 149.4, 141.3, 132.1, 131.4, 130.6, 125.3, 122.7, 121.7, 61.7, 39.8, 38.1, 35.2, 34.9.

## 3. 결과 및 고찰

Camostat 합성의 key step은 GBA (2)와 페놀 화합물 DOHA (3)과의 에스테르 형성 반응으로서 기존의 산성 조건에서 coupling을 시도하였으나 낮은 수율로 만족할 만한 결과를 얻지 못하였다. 이는 GBA (2)에 존재하고 있는 guanidine HCl의 강한 산성과 용해도에 기인하는 것으로서 원활한 coupling을 위하여 GBA (2)에 존재하는 카복실산을 보다 active한 작용기로 변환하여 DOHA (3)과의 에스테르 형성 반응을 수행하기로 하였다.

첫 번째 방법은 acid를 acid chloride로 activating 시키기 위하여 파

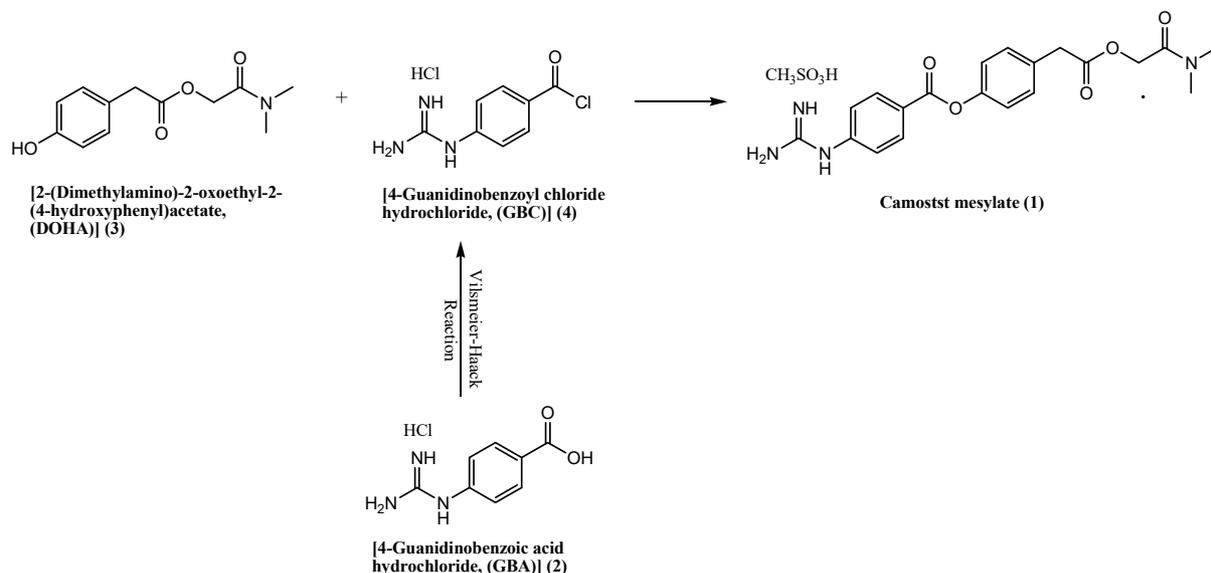


Figure 2. Synthetic scheme of camostat mesylate.

량의 thionyl chloride를 사용하고 온도에 따른 조건 실험을 진행하였지만, 24시간 기준으로 acid chloride로의 전환율이 70%를 넘지 않는 모습을 보였다. 과량의 thionyl chloride를 사용함에도 불구하고 전환율이 낮으며, 반응 후 과량의 thionyl chloride의 재사용 문제 등 부적합 요소를 가지고 있어 본 연구에는 적합하지 않는 것으로 판단하였다.

두 번째 방법은 아미노산의 시슬 신장을 위한 coupling 반응에 사용되는 DCC 반응[10], HOBt[11] 반응, NHS[12] 반응 등으로서 높은 수율과マイル드한 반응 조건을 가지고 있는 장점이 있어 적용하였다. Coupling reagent인 DCC (N,N'-dicyclohexylcarbodiimide), HOBt (N-Hydroxybenzotriazole), NHS (N-Hydroxysuccinimide) 등의 사용을 통해 합성하고자 하였으나, 본 반응에 적용 시 60~70% 정도의 낮은 합성 수율을 나타내며, 정제가 어려운 단점을 가지고 있다. 또한 이를 상업적으로 사용하기에 DCC, HOBt, NHS 등의 단가가 높아 경제적인 측면에서 적합하지 않은 것으로 판단되었다.

세 번째 activation 방법으로 tosylation을 적용하였다. Pyridine 촉매 하에 good leaving group인 tosyl기의 도입을 통해 GBA (2)를 tosyl ester의 형태로 전환 후 DOHA (3)와 coupling 반응을 진행하려 하였지만 tosyl ester로의 전환율은 극히 낮은 것을 확인하였으며, 촉매 겸 base인 pyridine을 대체하여 Et<sub>3</sub>N, DMAP로도 반응을 진행하였지만 다량의 불순물이 발생하였고, 낮은 전환율을 보여 tosylation은 적합하지 않은 것으로 판단하였다.

네 번째 방법으로 carboxylic acid에 적용 가능한 반응인 Vilsmeier-Haack 반응을 적용하였다. Vilsmeier-Haack 반응은 electron rich aromatic ring과 Vilsmeier reagent 사이의 electrophilic aromatic substitution을 통해 aromatic ring에 aldehyde 작용기를 도입하는 반응으로 현재는 aromatic system에 국한되지 않고 formylation[13], cyclization[14], conjugated system[15] 도입 등의 여러 유기 합성 반응에 사용되고 있다. Figure 2에 나타낸 바와 같이 본 반응에서의 적용은 aromatic ring의 1,4-위치에 guanidine, 및 carboxylic acid의 electron poor한 조건에서 electrophilic aromatic substitution 대신 GBA (2)의 carboxylic acid만을 선택적으로 activation 시킬 수 있을 것으로 판단하였다.

Vilsmeier-Haack 반응을 진행하기 위한 activating reagent로 oxalyl chloride, thionyl chloride, 등이 있지만, 단가가 높은 oxalyl chloride 배

Table 1. GBC Synthesis Conditions Depending on Solvent and Reaction Temperature

Entry <sup>a</sup>	Solvent	Rx. Temp. (h)	Yield (%) <sup>b</sup>
1	EA	25	45
2	Acetone	25	40
3	MC	45	88
4	DMF	45	27
5	Acetone	45	81
6	MC	45	79
7	EA	45	94
8	EA	60	80
9	Acetone	60	75

a. GBA 기준 SOCl<sub>2</sub> 2.0 eq. DMF 0.5 eq. 사용, b. 12시간 반응 후 GBA와 GBC의 HPLC 면적 비.

제하여 thionyl chloride를 activating reagent로 선택하였다. 예비 실험을 통하여 GBA (2) 대비 thionyl chloride, 2.0 당량, DMF, 0.5 당량이 가장 적합하였으며, 그 이하의 당량에서는 GBA (2)가 잔존하였으며, 그 이상의 당량에서는 일정 시간이 지나면서 불순물이 증가하는 것을 확인하였다.

Table 1에 본 연구에서 사용한 용매 및 반응온도에 따른 GBC (4) 합성 수율을 조사하였으며 그 결과를 나타내었다. GBA (2)는 물과 MeOH 같은 양성자성 용매에 용해가 되며 DMF, DMSO 등의 극성 비양성자성 용매에도 용해가 된다. 일반적으로 chlorination은 비양성자성 용매 하에서 진행하므로 용매로서 DMF를 사용하여 반응을 진행하였으나 다량의 불순물이 발생하여 물질의 용해성이 적은 용매인 MC, EA, Acetone으로 반응을 진행하였고, 그 중 순도가 가장 좋은 EA를 반응 용매로 선택하였다(entry 7, 8). 반응 온도가 높을수록 초기 반응 전환율이 높았지만, 불순물이 증가하는 양상을 보였고, 상온에서는 50% 이하의 전환율을 나타내어 40~50 °C 사이의 온도가 적정 온도로 판단하였다.

Vilsmeier-Haack 반응을 이용한 GBC (4) 합성의 최적 조건은 용매

**Table 2. Camostat Hydrochloride Synthesis Conditions Depending on Reaction Time and Temperature**

Entry <sup>a</sup>	Rx. Time (h)	Rx. Temp (°C)	Yield (%) <sup>b</sup>
1	5	25	62
2	4	25	69
3	3	25	76
4	5	40	81
5	4	40	85
6	3	40	86
7	5	50	55
8	4	50	65
9	3	50	75

a. DOHA 기준 GBC 1.15 eq. Pyridine 2.0 eq. 사용. b. Work-up 후 isolated 수율.

로 EA를 반응온도 40~50 °C에서 수율 94%의 최적 조건으로 판명되었다(entry 7).

GBC (4)와 DOHA (3)와의 coupling 반응을 통한 Camostat hydrochloride 합성 수율을 높이기 위해서 쉽게 가수분해 될 수 있는 중간체 GBC를 초과 반응물로 설정하였고, DOHA를 한계 반응물로 설정하였다. 이때, GBC의 투입량은 불순물의 양을 고려하여 1.15 당량을 사용하였을 때 가장 적합한 결과를 나타냈고, 반응 개시 및 acid capture base로 pyridine을 사용하였으며, 적정 투입 양은 2.0 당량을 사용하여야 빠른 반응 전환율을 보이며, 반응이 종결됨을 확인하였다.

Table 2에 본 연구에서 반응시간 및 반응온도에 따른 Camostat hydrochloride 합성 수율을 조사하였으며 그 결과를 나타내었다. 반응은 비교적 빠른 속도로 진행되나 상온에서는 반응 시간이 길어지면서 불순물이 증가하는 문제를 확인하였고, 40 °C 근방에서 불순물이 최소화되는 것을 확인하였다(entry 4, 5, 6). 50 °C 이상에서는 반응시간이 길어지면서 수율이 떨어지는 문제점을 확인하였다.

Camostat hydrochloride 합성의 최적 조건은 반응시간 3시간, 반응온도 40 °C일 때 반응이 빠르게 진행되며 최고의 수율을 얻을 수 있었다.

Camostat mesylate 합성의 마지막 단계인 염 교환(salt exchange)은 Camostat hydrochloride 당량의 1.05배의 NaOH를 사용하여 pH를 중성으로 조절 후 methanesulfonic acid를 적가하여 완료하였다. 생성된 Camostat mesylate는 최종적으로 DMF/acetone으로 재결정하여 얻었으며 NMR, HPLC, 및 원소 분석 등을 통하여 확인하였다.

## 4. 결 론

본 논문에서는 췌장염 치료제인 camostat mesylate 합성의 key step인 GBA (2)와 DOHA (3)의 coupling을 위한 최적의 조건을 탐색하였다. 사용된 coupling 방법 중 Vilsmeier-Haack 반응을 이용하여 GBA (2)를 GBC (4)로 activating 하여 이를 DOHA (3)와 coupling 하여 기존의 50%의 수율에서 80%로 향상된 결과를 얻을 수 있었다. GBC (4) 합성의 최적 조건은 GBA (2) 대비 thionyl chloride, 2.0 당량, DMF, 0.5 당량이 가장 적합하였으며, 반응온도는 40~50 °C, 반응용매는 EA를 사용하였을 때 수율 94%로 GBC (4)를 합성할 수 있었다.

향후에는 이 결과를 바탕으로 하여 전량 수입에 의존하고 있는 camostat mesylate를 대체하기 위하여 국내 제약사로 기술 이전을 추진할 예정이다

## 감 사

본 연구는 국민대학교의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

## References

- P. A. Banks and M. L. Freeman, Practice guidelines in acute pancreatitis, *Am. J. Gastroenterol.*, **101**, 2379-2400 (2006).
- M. K. McGowan, K. M. Andrews, and S. P. Grossman, Chronic intrahypothalamic insulin infusion in the rat, *Physiol. Behav.*, **54**, 1031-1034 (1993).
- M. Hirota, T. Takada, N. Kitamura, T. Ito, K. Hirata, M. Yoshida, T. Mayumi, and S. Kiriya, Fundamental and intensive care of acute pancreatitis, *J. Hepatobiliary Pancreat. Sci.*, **17**, 45-52 (2010).
- P. Malfertheiner and T. P. Kemmer, Clinical picture and diagnosis of acute pancreatitis, *Hepato-gastroenterology*, **38**, 97-100 (1991).
- R. Pezzilli, A. Zerbi, V. Di Carlo, C. Bassi, G. F. Delle Fave, and the Working Group of the Italian Association for the Study of the Pancreas on Acute Pancreatitis, Practical guidelines for acute pancreatitis, *Pancreatology*, **10**, 523-535 (2010).
- V. C. Oliveira de Lima, P. Grasiela, B. L. Maciel, and A. H. de Araújo Morais, Trypsin inhibitor: Promising candidate satietogenic proteins as complementary treatment for obesity and metabolic disorders?, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **34**, 405-419 (2019).
- M. Otsuki, M. Hirota, S. Arata, M. Koizumi, S. Kawa, T. Kamisawa, K. Takeda, T. Mayumi, M. Kitagawa, T. Ito, and Y. Takeyama, Consensus of primary care in acute pancreatitis in Japan, *World J. Gastroenterol.*, **12**, 3314-3323 (2006).
- S. Yatanabe, M. Simota, and T. Abe, New production method of camostat mesylate, *Japan Patent* 09309873A (1997).
- C. M. Marson and P. R. Giles, *Synthesis Using Vilsmeier Reagents*, 109-112, CRC Press. Inc., USA (1994).
- B. Neises and W. Steglich, Esterification of carboxylic acids with dicyclohexylcarbodiimide/4-dimethylaminopyridine: *Tert*-butyl ethyl fumarate, *Org. Synth.*, **63**, 183-184 (1985).
- Y. Seo, S. Lee, and Y. G. Kim, Stereoselective synthesis of novel bestatin analogs, *Appl. Chem. Eng.*, **26**, 111-115 (2015).
- D. Y. Kim and S. C. Kim, Practical synthesis of N-hydroxysuccinimide using lewis acid catalyst, *Appl. Chem. Eng.*, **30**, 313-315 (2019).
- I. Hoppe and U. Schollkopf, Cycloaddition reaction of isocyanoketene to benzophenonanil and thioimidates. *Chem. Ber.*, **109**, 482-487 (1976).
- H. H. Bosshard and H. Zollinger, Herstellung und Verwendung von Amidchlorid der Ameisensäure und verwandte Verbindungen, *Angew. Chem.*, **71**, 375-376 (1959).
- T. Fujisawa and T. Sato, Reduction of carboxylic acids to aldehyde. *Org. Synth.*, **66**, 121-122 (1988).

## Authors

Dong Nyeon Kim; B.Sc., Graduate Student, Department of Applied Chemistry, Kookmin University, Seoul 02707, Republic of Korea; answk21@kookmin.ac.kr

Seok Chan Kim; Ph.D., Professor, Department of Applied Chemistry, Kookmin University, Seoul 02707, Republic of Korea; sckim@kookmin.ac.kr