

Monoterpenoid 계의 새로운 항암제 합성 및 *In vitro* 세포독성 평가

이민정 · 백형근 · 김대근¹ · 이강노 · 정규혁 · 지옥표 · 정영훈*
성균관대학교 약학대학, ¹우석대학교 약학대학

Synthesis and *in vitro* Cytotoxicity Evaluation of Monoterpenoid as New Antitumor Agents

Min Jung LEE, Hyung-Gun BAEK, Dae Keun KIM¹, Kang Ro LEE, Ok Pyo ZEE,
Kyu-Hyuk CHUNG and Young Hoon JUNG*

College of Pharmacy, Sungkyunkwan University, Suwon 440-746, Korea; and
¹College of Pharmacy, Woosuk University, Samye 565-701, Korea

(Received September 3, 2001; accepted September 17, 2001)

Abstracts – Many attention has been focused on developing new chemotherapeutic agents for a treatment of cancer from natural products. From *Carpesium divaricatum* S. et Z. (Compositae), various monoterpenoid compounds were isolated and exhibited mild antitumor activity against human tumor cell lines. These facts prompted us to explore the structure-activity relationship of these compounds. The synthesis of monoterpenoid compound was accomplished by Fries rearrangement, Grignard reaction, elimination, allylic oxidation, esterification and epoxidation as key steps. The results of *in vitro* cytotoxicity (A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498, HCT15) of the synthesised compounds are as follows: First of all, epoxide moiety is prerequisite for cytotoxic activity in diester compound. Any kind of compounds with olefin or diol moiety instead of epoxide ring exhibited poor or mild cytotoxic activity respectively. Of *o*-acetoxy and isobutoxy epoxy esters, *p*-substituted phenylacetate compounds exhibited high cytotoxic activities against SK-MEL-2 and HCT15.

Keywords □ Monoterpenoid, thymol, epoxide, isobutyrate, acetate, phenylacetate, diol, cytotoxicity, antitumor agents.

긴담배풀(*Carpesium divaricatum* S. et Z.)은 국화과 다년초로서 우리 나라 산야에서 흔히 자라고 있으며 한방에서 감기, 인후증, 결핵성 림프선염, 종창, 암종, 대장염, 치질 등에 처방하였으며, 뿌리를 말린 것도 약용하기도 하지만 생초를 짓찧어 환부에 부치거나 달인 물로 환부를 닦아내는데 사용하였던 식물로 민간에서는 어린순을 나물, 국거리 등으로 식용하였던 식물이다. 이 식물로부터 모노테르페노이드(Zee *et al.*, 1998), 세스퀴테르페노이드(Zee *et al.*, 1997) 등의 여러 활성 물질이 분리 동정되었다. 일반적으로 모노테르펜을 포함한 테르펜계 화합물이 항암활성(Mulder *et al.*, 2000; Clark *et al.*, 1999; Loza-Tavera, 1999; Gould *et al.*, 1998; 1997; 1994; 1991; Hohl, 1996)을 나타낸다고 보고 되어진 바 있어 현재 이들에 대한 약리기전 연구 및 이를 토대로 항암제 개발연구가 매우 활발히 진행되고 있다.

이 중 모노테르페노이드계 물질을 SRB법으로 행한 항암 활성 검사에서 10~15 μ M 정도의 활성을 나타내었고 구조가 비교적 간단하여 합성이 용이하리라 생각된 10-이소부틸 옥시-8,9-에폭시티몰 이소부티레이트를 선도물질로 선택하여 화학적으로 합성한 후 다양한 유도체를 합성하여 그것들의 암세포에 대한 세포독성을 검토하여 암세포에 선택적인 항암물질을 개발하고자 하였다. 그러기 위해서 일차 세포독성 결과를 토대로 구조 활성 관계를 정립하여 암세포에 선택적으로 작용할 수 있는 이차 선도 물질의 도출이 목표이다. 티몰 유도체의 기본 모핵이 되는 상기 화합물은 페르디난드 등에 의해 최초로 분리되어 구조가 결정되었고(Bohlmann *et al.*, 1969; 1972; Willuhn *et al.*, 1998) 중간체의 합성이 불만 등에 의해 이루어졌다(Bohlmann *et al.*, 1976) 따라서 선도물질의 화학적 합성법을 구축한 후 다양한 유도체를 합성하여 *in vitro* 세포 독성 검사를 행하여 이 화합물의 구조와 활성 관계의 상관성을 살펴보고자 한다.

*To whom correspondence should be addressed.

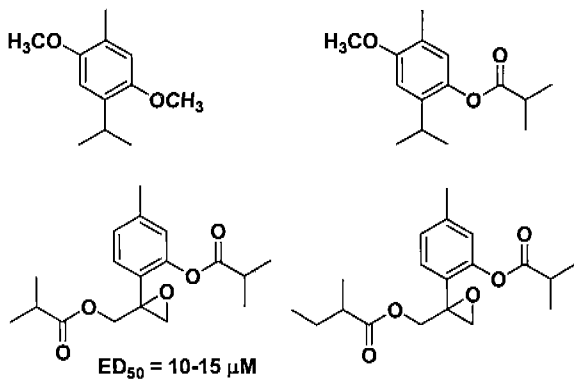


Fig. 1. Structure of monoterpene isolated from *Carpesium divaricatum*.

실험방법

Chemistry

시약 및 기구

사용된 모든 시약은 Aldrich Co. EP. grade 이상의 것을 사용하였으며, 용매는 각 해당 건조방법에 의거하여 사용하기 전에 바로 정제된 것을 사용하였다. 모든 반응에서 초자기구는 Dry Oven(90°C)에서 건조하고 염화칼슘 하에 desiccator에서 냉각시켜 사용하였다. NMR spectra는 Hitachi R-1100(60 MHz) 및 Varian Unity Inova 500 MHz Spectrometer를 사용하여 측정하였으며, Deuteriated solvent로는 $CDCl_3$ 이 사용되었고 chemical shift는 δ 값으로 표시하였다. IR은 Nicolet 205를 사용하여 측정하였으며, 용매로는 CH_2Cl_2 가 사용되었고 측정단위는 cm^{-1} wavenumber로 표시하였다. Thin Layer Chromatography는 Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck 5715)로 20×20 cm 판을 사용하였으며 Column Chromatography는 Silica Gel 60(Merck, 9385, 230~400 mesh)을 사용하였다.

합성 일반

3-아세톡시티루엔(2)의 제조

메타크레졸(1 g, 9.0 mmol)과 무수초산(1.1 g, 10.8 mmol)을 피리딘(3 ml) 염기 하 0°C에서 잘 섞은 후 서서히 온도를 실온으로 올려준다. 30분이 경과한 후 10~15 ml의 물을 넣고 1N HCl(30 ml)을 3회로 나누어 중화한 후 유기용매로 추출, 세척, 건조한 후 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1)를 행하여 1.3 g(96%)의 아세테이트 2를 미색 유상으로 얻었다. R_f 0.46(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) ¹H-NMR (60 MHz, $CDCl_3$) δ 7.2 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.0(d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.9 (s, 1H), 2.4 (s, 3H), 2.3 (s, 3H)

2-히드록시-4-메칠아세토펜(3)의 제조

삼구 플라스크에 온도계와 콘덴서를 장치한 후 3-아세톡시티루엔(300 mg, 2 mmol)과 염화 알루미늄(333 mg, 2.5

mmol)를 넣은 후 강력히 교반하여 섞어준 후 온도를 90°C로 유지하여 염화 알루미늄이 모두 녹으면 빠르게 120°C로 유지하고 천천히 160°C로 온도를 올린다(Blatt 1942). 이후 10분간 방치한 후 온도계와 콘덴서를 제거하고 얼음(1.2 g)과 농염산(0.75 ml)을 넣어 녹이고 유기용매로 추출, 세척, 건조한 후 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=8 : 1)를 행하여 270 mg(89%)의 케톤 3을 무색 유상으로 얻었다. R_f 0.46(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) ¹H-NMR (60 MHz, $CDCl_3$) δ 7.7 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.7 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.7 (s, 1H), 2.5 (s, 3H), 2.3 (s, 3H)

8-히드록시티롤(4)의 제조

메칠마그네슘 브로마이드(5.3 g, 45 mmol)의 에테르 용액(15 ml)에 케톤 3(4.5 g, 30 mmol)의 에테르(10 ml) 용액을 -78°C에서 천천히 점적한다. 점적이 끝난 후 온도를 서서히 상온으로 상승시킨 후 1시간 동안 교반하여 준다. 이를 다시 0°C로 낮춘 후 포화 염화암모늄 수용액(50 ml)을 천천히 점적하여 준다. 상기 반응액을 유기용매로 추출, 세척, 건조 후에 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=8 : 1)를 행하여 4.5 g(90%)의 알콜 4를 백색 고체로 얻었다. R_f 0.33(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) ¹H-NMR (60 MHz, $CDCl_3$) δ 7.2 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.8 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.8 (s, 1H), 2.3 (s, 3H), 1.7 (s, 6H)

8,9-디히드로티롤 아세테이트(5)의 제조

알콜 4(1.1 g, 6.4 mmol)를 무수 초산(1.2 ml, 12.7 mmol)에 녹이고 5분간 교반한 후 5 시간 동안 가열 환류한다(Büchi and Weinreb, 1971) 상기 반응액을 물로 희석시키고 유기용매로 추출, 세척, 건조한 후 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=10 : 1)를 행하여 1 g(83%)의 8,9-디히드로티롤 아세테이트 5를 미색 유상으로 얻었다. R_f 0.45(헥산 : 에칠 아세테이트=10 : 1) ¹H-NMR (60 MHz, $CDCl_3$) δ 7.2 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.8 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.8 (s, 1H), 2.3 (s, 3H), 1.7 (s, 6H)

8,9-디히드로티롤(6)의 제조

8,9-디히드로티롤 아세테이트 5(1.5 g, 7.9 mmol)을 메탄올(50 ml)에 녹이고 5분간 교반한 후 시안화칼륨(0.26 g, 3.9 mmol)을 넣고 12시간 교반한다. 감압 하에서 용매를 제거하고 잔류물을 물로 희석시킨 후 유기용매로 추출, 세척, 건조한 후 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1)를 행하여 1.1 g(80%)의 티롤 6을 미색 유상으로 얻었다. R_f 0.36(헥산 : 에칠 아세테이트=10 : 1) ¹H-NMR (500 MHz, $CDCl_3$) δ 7.27 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.69 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.75 (s, 1H), 5.47 (m, 1H), 5.37 (m, 1H), 4.40 (s, 2H), 2.30 (s, 3H)

8,9-디히드로티롤 이소부치레이트(7)의 제조

티롤 6(1.4 g, 9.5 mmol)을 디클로로메탄(20 ml)에 녹인 후 트리에칠아민(2.9 g, 4 ml, 28.5 mmol)을 천천히 점적한

다. 반응액을 5분간 교반하고 이소부치릴클로라이드(1.2 g, 1.5 ml, 4.8 mmol)를 5분에 걸쳐서 천천히 점적하여 준다. 이 반응액을 4시간 교반한 후 잔류물을 물로 희석시키고 유기용매로 추출, 세척, 건조 후에 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=8 : 1)를 행하여 1.7 g(85%)의 이소부치레이트 7을 미색 유상으로 얻었다. R_f 0.43(헥산 : 에칠 아세테이트=10 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.05 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.88 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.71 (s, 1H), 5.05 (d, 1H, $J=1.1$ Hz), 4.89 (d, 1H, $J=1.1$ Hz), 2.64 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), 1.21 (d, 6H, $J=7.0$)

8,9-디히드로-10-히드록시티몰 이소부치레이트(8)의 제조

셀레늄 디옥사이드(530 mg, 4.8 mmol)를 무수 디클로로메탄(50 ml)에 녹인 후 *t*-부칠히드로퍼옥사이드(3.9 ml) (Sharpless and Umbreit, 1977; Sharpless *et al.*, 1982; Rosati *et al.* 1989)를 천천히 점적하고 반응액을 1시간 동안 교반한다. 이에 이소부치레이트 7(2.1 g, 9.6 mmol)을 천천히 10분에 걸쳐 점적한다. 반응액을 20시간 교반하여 준 후에 벤젠(20 ml)을 넣고 감압 하에서 디클로로메탄을 제거하고 에테르(50 ml)로 녹인다. 상기 유기층을(10 ml)의 10% 수산화칼륨 수용액으로 4회에 걸쳐서 세척하여 준다. 과량의 *t*-부칠히드로퍼옥사이드를 제거하기 위하여 에테르를 감압 하에서 제거한 후 남은 잔사를 차가운 초산(10 ml)에 녹인다. 이에 과량의 메칠 설펜아이드(20 ml)를 천천히 점적한 후 25~30°C 사이에서 4시간 동안 교반하고 반응액을 0°C에서 20% 탄산칼륨 수용액으로 중화시킨 후 유기용매로 추출, 세척, 건조 후에 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=8 : 1)를 행하여 0.9 g(40%)의 순수한 알릴 알콜 8을 무색 유상으로 얻었고 1 g(48%)의 출발물질을 회수하였다. R_f 0.31(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.98 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.69 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.75 (s, 1H), 5.49 (d, 1H, $J=1.1$ Hz), 5.29 (d, 1H, $J=1.1$ Hz), 4.75 (s, 2H), 2.64 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 1.21 (d, 6H, $J=7.0$)

10-이소부칠옥시-8,9-디히드로티몰 이소부치레이트(9)의 제조

알릴 알콜 8(43 mg, 0.18 mmol)을 무수 디클로로메탄(20 ml)에 녹인 후 디사이클로헥실디카보다이미드(69 mg, 0.33 mmol), 디메칠아미노피리딘(12 mg, 0.10 mmol) 및 이소부칠산(19 mg, 0.22 mmol)을 차례로 가한다. 상기 반응액을 2시간 교반 후 유기층을 물과 포화 식염수로 세척하고 무수 황산 마그네슘으로 건조한 후 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=8 : 1)를 행하여 45 mg(80%)의 이소부치레이트 9를 미색 유상으로 얻었다. R_f 0.39(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 6.98 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.69 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.75 (s, 1H), 5.49 (d, 1H, $J=1.1$ Hz), 5.29 (d, 1H, $J=1.1$ Hz), 4.75 (s,

2H), 2.64 (m, 1H), 2.30 (s, 3H), 1.21 (d, 6H, $J=7.0$)

10-이소부칠옥시-8,9-에폭시티몰 이소부치레이트(10)의 제조

디클로로메탄(20 ml)에 녹아있는 디에스테르 9(50 mg, 0.16 mmol)을 0.4M 탄산수소나트륨 수용액으로 pH 8~9로 조절한 후 소량의 메타클로로퍼벤조산 소량을 넣고 30분간 교반한다. 이어 반응액에 메타클로로퍼벤조산(70 mg, 0.40 mmol)을 넣고서 24시간 동안 교반한다. 반응 완결 후 유기층을 물과 포화 식염수로 세척하고 무수 황산 마그네슘으로 건조한 후 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=8 : 1)를 행하여 40 mg(76%)의 에폭사이드 10을 무색 유상으로 얻었다. R_f 0.32(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) IR (neat) : 1770, 1750 cm^{-1} . $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.26 (d, 2H, $J=7.5$ Hz), 6.96 (d, 2H, $J=7.5$ Hz), 6.78 (s, 1H), 4.45 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 4.11 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 2.87 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.79 (m, 1H), 2.63 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.44 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.29~1.20 (m, 12H). $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) : δ 19.61, 21.84, 34.56, 34.92, 51.42, 57.63, 65.57, 77.47, 77.72, 77.97, 123.66, 126.69, 127.44, 129.64, 140.61, 149.29, 176.03, 177.12

8,9-디히드로-10-히드록시티몰 아세테이트(11)의 제조

셀레늄 디옥사이드(2.3 g, 20.5 mmol)를 무수 디클로로메탄(100 ml)에 녹인 후 *t*-부칠히드로퍼옥사이드(8.2 ml, 82.0 mmol)를 천천히 점적하고 반응액을 1시간 동안 교반한다. 이에 8,9-디히드로티몰 아세테이트 5(3.9 g, 20.5 mmol)를 천천히 10분에 걸쳐 점적한다. 반응액을 20시간 교반하여 준 후에 벤젠(40 ml)을 넣고 감압 하에서 디클로로메탄을 제거하고 에테르(100 ml)로 녹인다. 상기 유기층을 10% 수산화칼륨 수용액(20 ml)으로 4회에 걸쳐서 세척한다. 과량의 *t*-부칠히드로퍼옥사이드를 제거하기 위하여 에테르를 감압 하에서 제거한 후 남은 잔사를 차가운 초산(25 ml)에 녹인다. 이에 과량의 메칠 설펜아이드(40 ml)를 천천히 점적한 후 25~30°C 사이에서 4시간동안 교반하고 반응액을 0°C에서 20% 탄산칼륨 수용액으로 중화시킨 후 유기용매로 추출, 세척, 건조 후에 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1)를 행하여 1.9 g(45%)의 알콜 11을 미색 유상으로 얻었고 1.6 g(40%)의 출발물질을 회수하였다. R_f 0.36(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.17 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.02 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.85 (s, 1H), 5.38 (d, 1H, $J=1.5$ Hz), 5.18 (d, 1H, $J=1.5$ Hz), 4.79 (s, 2H), 2.31 (s, 3H), 2.14 (s, 3H)

상기 화합물 11을 출발 물질로 하여 화합물 9, 10의 합성법과 동일한 방법에 따라 화합물 12, 13의 다양한 유도체를 합성하였다.

10-벤질옥시-8,9-메틸렌티몰 아세테이트(12-1)

Yield 91% R_f 0.49(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.16 (m, 2H), 7.64 (m, 1H), 7.51 (m, 2H),

7.24 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.08 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.01 (s, 1H), 5.37 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 5.29 (d, 1H, $J=3.5$ Hz), 4.82 (s, 2H), 2.38 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 21.56, 21.80, 67.04, 77.48, 77.73, 77.99, 123.88, 126.88, 127.72, 129.49, 129.70, 129.85, 130.86, 134.56, 140.75, 149.37, 165.58, 171.13

10-(4-메톡시페닐아세톡시)-8,9-메칠렌티몰 아세테이트(12-2)

Yield 88% R_f 0.45(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.3 (m, 5H), 7.14 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.02 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.84 (s, 1H), 5.24 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 5.10 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 4.66 (s, 2H), 3.82 (s, 2H), 2.33 (s, 3H), 2.04 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 21.60, 21.73, 41.21, 48.76, 55.99, 66.77, 77.48, 77.73, 77.99, 114.75, 114.84, 117.76, 123.78, 126.09, 127.61, 130.01, 130.37, 131.19, 131.21, 139.88, 140.89, 148.49, 148.49, 159.54, 170.94, 171.26

10-페닐아세톡시-8,9-메칠렌티몰 아세테이트(12-3)

Yield 93% R_f 0.40(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.17 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.02 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.86 (s, 1H), 5.50 (t, 2H, $J=7.5$ Hz), 5.38 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 5.20 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 4.79 (s, 2H), 2.34 (s, 3H), 2.05 (s, 3H), 0.87 (t, 3H, $J=7.0$ Hz), 1.68 (m, 2H), 1.28 (m, 24H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 14.78, 21.57, 21.69, 23.33, 25.62, 26.32, 32.27, 34.64, 42.10, 66.77, 77.44, 77.69, 77.94, 117.81, 123.75, 127.59, 127.96, 129.32, 130.03, 130.13, 130.34, 134.04, 139.85, 140.88, 148.48, 170.56, 171.18

10-(4-니트로페닐아세톡시)-8,9-메칠렌티몰 아세테이트(12-4)

Yield 85% R_f 0.35(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.23 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 7.55 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 7.16 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.04 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.84 (s, 1H), 5.25 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 5.09 (d, 1H, $J=3.5$ Hz), 4.70 (s, 2H), 3.96 (s, 2H), 2.34 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 21.57, 21.74, 41.60, 66.44, 77.47, 77.72, 77.97, 117.18, 123.59, 124.51, 127.98, 129.78, 130.49, 131.22, 140.16, 140.95, 141.36, 148.23, 169.41, 171.23

10-(4-플루오로페닐아세톡시)-8,9-메칠렌티몰 아세테이트(12-5)

Yield 87% R_f 0.46(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.28 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 7.14 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.03 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.89 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 6.84 (s, 1H), 5.29 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 5.11 (d, 1H, $J=3.5$ Hz), 4.67 (s, 2H), 3.80 (s, 3H), 3.75 (s, 3H), 2.33 (s, 3H), 2.04 (s, 3H)

10-아세톡시-8,9-메칠렌티몰 아세테이트(12-6)

Yield 85.2% R_f 0.52(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.34~7.21 (m, 3H), 7.06 (dd, 1H, $J=1$, 8 Hz), 5.42 (dd, 1H, $J=1.5$, 2.5 Hz), 5.24 (dd, 1H, $J=1$,

2.5 Hz), 4.83 (t, 2H, $J=1$ Hz), 2.27 (s, 3H), 2.06 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 171.24, 170.06, 148.68, 141.43, 133.01, 130.70, 129.65, 126.81, 123.42, 117.81, 66.63, 27.88, 21.63 IR (neat) 2198.2, 1751.1, 1487.5, 1441.2, 1373.0, 1227.9, 1193.9, 1088.0, 1037.7, 914.26, 764.91, 431.45 cm^{-1}

10-트리플루오로아세톡시-8,9-메칠렌티몰 아세테이트(12-7)

Yield 83.4% R_f 0.42(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.24 (dd, 1H, $J=4$, 12 Hz), 7.17 (dd, 1H, $J=0.5$, 7.5 Hz), 7.10 (s, 1H), 5.61 (d, 1H, $J=1$ Hz), 5.37 (d, 1H, $J=1$ Hz), 4.85 (s, 2H), 2.40 (s, 3H), 2.04 (s, 3H)

10-이소부톡시-8,9-메칠렌티몰 아세테이트(12-8)

Yield 81.9% R_f 0.55(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.17 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.03 (dd, 1H, $J=2$, 8 Hz), 6.86 (d, 1H, $J=0.5$ Hz), 5.39 (dd, 1H, $J=1.5$, 3 Hz), 5.20 (d, 1H, $J=1$ Hz), 4.79 (t, 2H, $J=1$ Hz), 2.76 (m, 1H), 2.35 (s, 3H), 2.06 (s, 3H), 1.26 (d, 6H, $J=7$ Hz) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 176.20, 171.29, 148.58, 140.94, 139.85, 130.31, 130.11, 127.42, 123.87, 117.73, 66.90, 35.62, 21.65, 19.59 IR (neat) 2977.2, 2937.4, 1748.3, 1468.6, 1228.1, 1155.4, 1124.6, 1005.5, 1042.8, 756.92 cm^{-1} .

10-벤질옥시-8,9-에폭시티몰 아세테이트(13-1)

Yield 79% R_f 0.42(헥산 : 에칠 아세테이트=5 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.42 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.10 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.03 (s, 1H), 4.59 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 4.18 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 2.99 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.87 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.33 (s, 3H), 1.96 (s, 3H), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 21.33, 21.91, 51.83, 57.40, 66.80, 66.80, 77.48, 77.73, 77.99, 123.88, 126.88, 127.72, 129.49, 129.70, 129.85, 130.86, 134.56, 140.75, 149.37, 165.58, 171.13

10-(4-메톡시페닐아세톡시)-8,9-에폭시티몰 아세테이트(13-2)

Yield 82% R_f 0.41(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.32 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 7.31 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 7.04 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.90 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 6.87 (s, 1H), 4.35 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 3.90 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 3.82 (s, 2H), 3.81 (s, 3H), 2.60 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.58 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.33 (s, 3H), 1.99 (s, 3H), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 21.36, 21.83, 41.41, 51.46, 55.99, 57.15, 65.99, 77.50, 77.76, 78.02, 114.92, 123.61, 126.01, 126.70, 127.69, 129.58, 131.10, 131.17, 140.62, 149.00, 159.74, 170.73, 171.14

10-페닐아세톡시-8,9-에폭시티몰 아세테이트(13-3)

Yield 76% R_f 0.39(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.35 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.03 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.87 (s, 1H), 4.32 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 3.88 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 3.87 (s, 2H), 2.56 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.53 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.33 (s, 3H), 1.98 (s, 3H), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz,

CDCl_3) δ 21.40, 21.84, 42.34, 51.41, 57.09, 66.07, 77.47, 77.72, 77.98, 123.58, 126.68, 127.70, 128.24, 129.55, 129.61, 130.13, 134.02, 140.61, 148.95, 170.38, 171.06

10-(4-니트로페닐아세톡시)-8,9-에폭시티몰 아세테이트(13-4)

Yield 83% R_f 0.36(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.35 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.03 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.87 (s, 1H), 4.38 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 4.06 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 4.05 (s, 2H), 2.84 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.71 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.34 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), IR (neat): 1741, 1265, 1524, 1348 cm^{-1}

10-(4-플루오로페닐아세톡시)-8,9-에폭시티몰 아세테이트 (13-5)

Yield 75.2% R_f 0.45(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.45 (dd, 1H, $J=2, 8$ Hz), 7.40~7.34 (m, 3H), 7.27~7.23 (m, 2H), 7.08~7.05 (m, 2H), 4.40 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 4.01 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 3.88 (s, 3H), 2.69 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.64 (d, 1H, $J=5$ Hz), 2.00 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 171.05, 170.20, 163.97, 149.25, 131.77, 130.31, 129.92, 129.74, 129.67, 126.98, 123.17, 116.53, 116.35, 65.56, 57.39, 51.32, 41.36, 21.34 IR (neat) 2920.3, 1749.4, 1508.9, 1229.3, 1123.0, 1039.0, 734.78, 429.45 cm^{-1}

10-아세톡시-8,9-에폭시티몰 아세테이트(13-6)

Yield 77.1% R_f 0.53(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.48 (dd, 1H, $J=2.5, 12.5$ Hz), 7.38~7.35 (m, 1H), 7.26~7.23 (m, 1H), 7.08 (dd, 1H, $J=1.5, 12.5$ Hz), 4.52 (d, 1H, $J=12$ Hz), 4.28 (d, 1H, $J=12$ Hz), 3.05 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.82 (d, 1H, $J=5$ Hz), 2.33 (s, 3H), 2.02 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 171.17, 169.92, 149.42, 130.30, 129.79, 129.67, 126.84, 123.38, 65.83, 57.60, 51.67, 21.65, 21.36 IR (neat) 1752.4, 1445.5, 1372.2, 1228.3, 1194.5, 1040.8, 431.55 cm^{-1}

10-트리플루오로아세톡시-8,9-에폭시티몰 아세테이트(13-7)

Yield 73.5% R_f 0.49(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.47 (d, 1H, $J=8$ Hz), 7.26 (dd, 1H, $J=0.5, 1.5$ Hz), 7.09 (s, 1H), 4.68 (d, 1H, $J=12$ Hz), 4.15 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 3.18 (d, 1H, $J=4.5$ Hz), 2.95 (d, 1H, $J=5$ Hz), 2.40 (s, 3H), 2.01 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 170.89, 147.48, 141.96, 130.72, 129.94, 127.84, 122.21, 120.42, 66.34, 56.92, 52.56, 30.38, 21.83, 21.22

10-이소부톡시-8,9-에폭시티몰 아세테이트(13-8)

Yield 78.2% R_f 0.55(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1)
상기 화합물 8을 출발 물질로 하여 화합물 9, 10의 합성 법과 동일한 방법에 따라 화합물 14, 15의 다양한 유도체를 합성하였다.

10-페닐아세톡시-8,9-메칠렌티몰 이소부치레이트(14-1)

Yield 86% R_f 0.36(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.3 (m, 5H), 7.14 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.02 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.84 (s, 1H), 5.22 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 5.08 (d, 1H, $J=3.5$ Hz), 4.66 (s, 2H), 3.83 (s, 2H), 2.5 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.2 (m, 3H), 1.1 (m, 3H), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 19.60, 21.69, 26.74, 34.68, 39.37, 42.11, 66.40, 77.45, 77.70, 77.95, 84.40, 117.33, 123.70, 127.54, 127.97, 128.10, 129.31, 129.39, 129.85, 130.07, 130.14, 130.43, 133.55, 134.06, 139.80, 141.20, 148.47, 170.57, 177.15, IR (M.C): 1761, 1735 cm^{-1}

10-(4-니트로페닐아세톡시)-8,9-메칠렌티몰 이소부치레이트(14-2)

Yield 91% R_f 0.32(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.23 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 7.55 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 7.3 (m, 5H), 7.16 (d, 1H, $J=9.0$ Hz), 7.04 (d, 1H, $J=9.0$ Hz), 6.84 (s, 1H), 5.23 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 5.08 (d, 1H, $J=3.5$ Hz), 4.71 (s, 2H), 3.97 (s, 2H), 2.5(m, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.1 (m, 6H), $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 19.64, 21.74, 34.68, 41.58, 66.06, 77.47, 77.72, 77.98, 116.68, 123.52, 124.49, 127.93, 129.81, 130.58, 131.24, 140.12, 141.33, 141.39, 148.22, 169.44, 177.20

10-(4-플루오로페닐아세톡시)-8,9-메칠렌티몰 이소부치레이트(14-3)

Yield 86% R_f 0.38(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.3 (m, 2H), 7.16 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.04 (d, 1H, $J=8.3$ Hz), 7.0 (m, 2H), 6.84 (s, 1H), 5.23 (d, 1H, $J=3.0$ Hz), 5.08 (d, 1H, $J=3.5$ Hz), 4.65 (s, 2H), 3.80 (s, 2H), 2.33 (s, 3H), 1.1 (d, 6H, $J=7.0$ Hz), 2.5 (m, 1H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 21.57, 21.73, 41.19, 48.86, 66.64, 77.50, 77.76, 78.01, 116.28, 117.53, 123.73, 127.73, 129.78, 129.96, 131.74, 139.97, 140.88, 148.41, 161.74, 163.69, 170.51, 171.23

10-페닐아세톡시-8,9-에폭시티몰 이소부치레이트(15-1)

Yield 75% R_f 0.42(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.40 (m, 5H), 7.31(d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.02 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.88 (s, 1H), 4.39 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 3.88 (s, 2H), 3.83 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 2.54 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.49 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.47 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.07 (m, 6H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 19.52, 19.59, 21.82, 34.54, 42.34, 51.16, 57.32, 65.70, 77.47, 77.73, 77.98, 123.53, 126.70, 127.61, 128.25, 129.55, 129.68, 130.14, 134.05, 140.55, 148.93, 170.44, 177.09 IR (neat) : 1739, 1266 cm^{-1}

10-(4-니트로페닐아세톡시)-8,9-에폭시티몰 이소부치레이트(15-2)

Yield 81% R_f 0.39(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.24 (d, 2H, $J=9.0$ Hz), 7.60 (d, 2H,

$J=9.0$ Hz), 7.31 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.04 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.86 (s, 1H), 4.45 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 4.15 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 4.07 (s, 2H), 2.83(d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.71 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.5 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.1 (m, 6H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 19.56, 19.62, 21.82, 34.56, 41.54, 51.01, 57.77, 64.65, 77.47, 77.72, 77.98, 123.69, 124.56, 126.35, 127.90, 129.77, 131.32, 140.91, 141.38, 148.07, 149.20, 169.51, 177.20

10-(4-플루오로페닐아세트옥시)-8,9-에폭시티몰 이소부치레이트(15-3)

Yield 78% R_f 0.43(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.31 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.3 (m, 2H), 7.0 (m, 2H), 7.04 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.86 (s, 1H), 4.43 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 3.96 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 3.87 (s, 2H), 2.65 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.61 (d, 1H, $J=5.5$ Hz), 2.5 (m, 1H), 2.33 (s, 3H), 1.1 (m, 6H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 21.35, 21.81, 41.30, 51.31, 57.24, 65.59, 77.50, 77.76, 78.02, 116.30, 123.63, 126.56, 127.79, 129.50, 129.77, 131.73, 140.73, 149.04, 161.95, 163.91, 170.33, 171.11 IR (neat) : 1738, 1265 cm^{-1}

2-메칠-4-히드록시아세트페논(16) 제조

니트로벤젠 용액(50 g)에 아세테이트 2(10 g, 67 mmol)를 넣은 후 염화알루미늄(10 g, 75 mmol)을 소량씩 넣어 준다. 상기 반응액을 상온에서 24시간 동안 교반하고 얼음(10 g)과 염산(20 ml)을 넣고 유기용매로 추출, 세척, 건조 후에 니트로벤젠 용액을 증류하여 제거하고 잔사를 감압 하에서 증류하여 8.0 g(80%)의 순수한 2-메칠-4-히드록시아세트페논 16을 백색 고체로 얻었다. mp 128°C R_f 0.43(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, CDCl_3) δ 9.9 (s, 1H), 7.7 (d, 1H), 6.7 (d, 1H), 6.8 (s, 1H), 2.5 (s, 6H)

α -메칠- α -(4'-히드록시-2'-메칠페닐)에탄올(17)의 제조

테트라히드로퓨란(15 ml)에 메칠마그네슘 브로마이드(30 ml, 90 mmol, 3M solution)를 녹이고 이에 테트라히드로퓨란(10 ml)에 녹아 있는 케톤 16(4.5 g, 30 mmol)을 -78°C에서 천천히 첨가한다. 첨가가 끝난 후 온도를 서서히 -40°C로 상승시킨 후 5시간 동안 교반한다. 반응액을 다시 0°C로 상승시킨 후에 다시 1시간 동안 교반하고 상기 반응액에 포화 염화암모늄(50 ml)을 천천히 첨가한다. 상기 반응액을 유기용매로 추출, 세척, 건조 후에 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=10 : 1)를 행하여 4.0 g(80%)의 순수한 알콜 17을 백색 고체로 얻었다. R_f 0.41(헥산 : 에칠 아세테이트=3 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, CDCl_3) δ 7.7 (d, 1H), 6.7 (d, 1H), 6.8 (s, 1H), 2.5 (s, 3H), 2.3 (s, 6H)

4-이소프로필렌-3-메칠페닐 아세테이트(18)의 제조

케톤 17(1.1 g, 6.6 mmol)을 무수 아세트산(1.2 ml)에 녹이고 5분간 교반한 후 5시간 동안 가열 환류한다. 상기

반응액을 유기용매로 추출, 세척, 건조 후에 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=15 : 1)를 행하여 1 g(83%)의 순수한 4-이소프로필렌-3-메칠페닐 아세테이트 18를 미색 유상으로 얻었다. R_f 0.44(헥산 : 에칠 아세테이트=8 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, CDCl_3) δ 7.5 (d, 1H), 6.9 (d, 1H), 6.9 (s, 1H), 5.3 (d, 1H), 5.0 (d, 1H), 2.5 (s, 6H), 2.3 (s, 3H)

2-(4'-아세톡시-2'-메칠페닐)-프로-2-펜올(19)의 제조

셀레늄 디옥사이드(88 mg, 0.8 mmol)를 무수 디클로로메탄(20 ml)에 녹인 후 *t*-부틸히드로퍼옥사이드(0.6 ml)를 천천히 첨가하고 반응액을 1시간 동안 교반한다. 이에 18(300 mg, 1.6 mmol)을 천천히 10분에 걸쳐 첨가한다. 반응액을 20시간 교반한 후 벤젠(10 ml)을 넣고 감압 하에서 디클로로메탄을 제거하고 에테르(30 ml)로 녹인다. 상기 유기층을 10% 수산화칼륨 수용액(10 ml)으로 4회에 걸쳐서 세척한다. 과량의 *t*-부틸 히드로퍼옥사이드를 제거하기 위하여 에테르를 감압 하에서 제거한 후 남은 잔사를 차가운 초산(10 ml)에 녹인다. 이에 과량의 메칠 설펜아이드(20 ml)를 천천히 첨가한 후 25~30°C 사이에서 4시간 동안 교반하고 반응액을 0°C에서 20% 탄산칼륨수용액으로 중화시킨 후 유기용매로 추출, 세척, 건조 후에 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=8 : 1)를 행하여 137 mg(42%)의 알릴 알콜 19를 미색 유상으로 얻었고 44 mg(50%)의 출발물질을 회수하였다. R_f 0.40(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (60 MHz, CDCl_3) δ 7.5 (d, 1H), 6.9 (d, 1H), 6.9 (s, 1H), 5.6 (d, 1H), 5.4 (d, 1H), 5.0 (s, 2H), 2.5 (s, 3H), 2.3 (s, 3H)

회합물 19를 출발물질로 하여 회합물 9, 10과 동일한 방법에 의해 20, 21의 다양한 유도체를 합성하였다.

2-(4'-아세톡시-2'-메칠페닐)-프로-2-펜 페닐아세테이트(20-1)

Yield 85% R_f 0.41(헥산 : 에칠 아세테이트=6 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.35 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 7.05 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.87 (s, 1H), 4.51 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 4.2 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 3.02 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 2.80 (d, 1H, $J=12.0$ Hz), 2.58 (m, 2H), 2.35 (s, 3H), 2.02 (s, 3H), 1.74 (m, 2H), 1.2 (m, 24H), 0.8 (m, 3H)

2-(4'-아세톡시-2'-메칠페닐)-3-페닐아세톡시-1,2-에폭시프로판(21-1)

Yield 74% R_f 0.38(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.20~7.33 (m, 5H), 7.20 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.88 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.86 (s, 1H), 4.53 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 4.22 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 3.04 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.78 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.37 (s, 3H), 2.29 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 19.73, 21.80, 41.83, 51.78, 59.13, 66.16, 77.45, 77.71, 77.97, 119.57, 123.78, 127.86, 129.29, 129.99, 130.41, 133.22, 134.24, 138.58, 151.17, 170.04, 171.64

2-(4'-아세톡시-2'-메칠페닐)-3-벤조кси-1,2-에폭시프로판(21-2)

Yield 79% R_f 0.36(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.99 (m, 2H), 7.54~7.58 (m, 1H), 7.42~7.48 (m, 2H), 7.42 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.93 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.92 (s, 1H), 4.72 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 4.50 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 3.24 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.91 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.47 (s, 3H), 2.29 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 19.86, 21.84, 52.00, 59.37, 66.30, 77.48, 77.73, 77.99, 119.67, 123.87, 129.14, 130.26, 130.38, 130.46, 133.46, 133.94, 138.57, 151.19, 166.75, 170.16

2-(4'-아세톡시-2'-메틸페닐)-3-이소부톡시-1,2-에폭시프로판(21-3)

Yield 82% R_f 0.43(헥산 : 에칠 아세테이트=4 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.39 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.90 (d, 1H, $J=8.0$ Hz), 6.89 (s, 1H), 4.54 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 4.19 (d, 1H, $J=12.5$ Hz), 3.14 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.85 (d, 1H, $J=5.0$ Hz), 2.53 (m, 1H), 2.42 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 1.10~1.22(m, 6H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 19.57, 19.80, 21.84, 34.59, 51.78, 59.31, 65.52, 77.47, 77.72, 77.97, 119.53, 123.78, 130.46, 133.39, 138.59, 151.14, 170.15, 177.21

10-(4-메톡시벤조кси)-8,9-디히드록시티몰 아세테이트(22-1)

아세톤(1.3 ml), 3급부탄올(0.5 ml)과 물(4 ml)의 혼합용액에 0.25% 사산화오스늄 수용액(5.0 mg, 2.0 ml, 0.02 mmol)을 가하고 50% 4-메틸모폴린-N-옥사이드 수용액(27.4 mg, 55 μl , 0.24 mmol)을 가하여 교반하면서(Kishi *et al* 1983), 메칠렌 화합물 14(69 mg, 0.20 mmol)를 가하여 실온에서 교반하였다. 치오황산나트륨을 반응액에 가하고 에칠 아세테이트로 회석시킨 후 유기층을 세척, 건조 후에 컬럼 크로마토그래피(헥산 : 에칠 아세테이트=2 : 1)를 행하여 38.9 mg(52%)의 더울 22-1을 미색 유상으로 얻었다. R_f 0.35(헥산 : 에칠 아세테이트=2 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.83 (s, 1H), 7.97-7.94 (m, 2H), 6.96 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.93~6.90 (m, 2H), 6.73 (d, 1H, $J=1$ Hz), 6.68~6.66 (m, 1H), 4.69~4.63 (m, 2H), 4.53 (s, 2H), 4.47 (s, 1H), 3.86 (s, 3H), 2.28 (s, 3H), 2.04 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 171.99, 167.42, 164.55, 157.40, 140.95, 132.62, 126.94, 122.19, 121.31, 119.51, 119.48, 114.51, 79.30, 68.74, 68.40, 56.17, 21.70, 21.48 IR (neat) 3324.8, 3017.5, 2959.0, 2927.8, 1722.1, 1606.5, 1579.5, 1512.5, 1461.3, 1421.1, 1378.7, 1316.2, 1259.1, 1169.7, 1104.1, 1030.6, 758.12, 609.97 cm^{-1}

10-벤조кси-8,9-디히드록시티몰 아세테이트(22-2)

Yield 46.5% R_f 0.39(헥산 : 에칠 아세테이트=2 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.75 (s, 1H), 8.01~7.99 (m, 2H), 7.60~7.56 (m, 1H), 7.46~7.42 (m, 2H), 6.97 (d, 1H, $J=8.5$ Hz), 6.73 (d, 1H, $J=1$ Hz), 6.69~6.67 (m, 1H), 4.71~4.66 (m, 2H), 4.55 (s, 2H), 4.36 (s, 1H), 2.28 (s, 3H), 2.05 (s, 3H)

$^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 172.07, 167.51, 157.32, 141.03, 134.24, 130.49, 129.94, 129.25, 126.92, 121.39, 119.50, 79.17, 68.79, 68.38, 21.69, 21.46 IR (neat) 3324.7, 3021.2, 1742.2, 1629.7, 1579.4, 1512.2, 1452.2, 1413.4, 1376.3, 1315.4, 1271.8, 1254.9, 1177.7, 1162.9, 1115.8, 1070.7, 1049.3, 1028.3, 756.28, 712.58, 667.91 cm^{-1}

10-(4-니트로벤조кси)-8,9-디히드록시티몰 아세테이트(22-3)

Yield 37.5% R_f 0.33(헥산 : 에칠 아세테이트=2 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.53 (s, 1H), 8.29~8.27 (m, 2H), 8.17~8.14 (m, 2H), 6.97 (d, 1H, $J=7.5$ Hz), 6.74 (s, 1H), 6.69 (dd, 1H, $J=1$ Hz, 8 Hz), 4.72~4.67 (m, 2H), 4.62~4.56 (m, 2H), 4.23 (s, 1H), 2.29 (s, 3H), 2.09 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 172.25, 165.38, 157.15, 151.46, 141.27, 135.43, 131.59, 126.83, 124.37, 121.56, 119.54, 119.27, 79.03, 69.28, 68.27, 21.49 IR (neat) 3350.6, 2926.7, 1737.8, 1609.5, 1520.5, 1348.6, 1239.9, 1157.1, 1042.8, 751.38, 430.93 cm^{-1}

10-(4-메톡시페닐아세톡시)-8,9-디히드록시티몰 아세테이트(22-4)

Yield 42.8% R_f 0.38(헥산 : 에칠 아세테이트=2 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.58 (s, 1H), 7.11 (dd, 2H, $J=2$ Hz, 6.5 Hz), 6.84~6.81 (m, 3H), 6.70 (s, 1H), 6.62 (dd, 1H, $J=1$ Hz, 8Hz), 4.48~4.35 (m, 4H), 4.03 (s, 1H), 3.80 (s, 3H), 3.57 (s, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.05 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 172.72, 171.92, 159.53, 157.21, 140.94, 130.94, 126.98, 126.03, 121.30, 119.37, 114.79, 79.07, 68.20, 68.02, 55.97, 40.95, 21.69, 21.47 IR (neat) 3352.0, 3018.7, 1739.1, 1724.9, 1614.4, 1513.0, 1462.7, 1370.2, 1301.8, 1249.0, 1177.7, 1147.9, 1036.1, 756.70, 667.18 cm^{-1}

10-페닐아세톡시-8,9-디히드록시티몰 아세테이트(22-5)

Yield 46.7% R_f 0.44(헥산 : 에칠 아세테이트=2 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.57 (s, 1H), 7.32~7.25 (m, 3H), 7.20 (dd, 2H, $J=1$ Hz, 4 Hz), 6.81 (d, 1H, $J=8$ Hz), 6.70 (d, 1H, $J=1$ Hz), 6.63~6.61 (m, 1H), 4.49~4.35 (m, 4H), 4.03 (s, 1H), 3.63 (s, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.05 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 172.35, 171.96, 157.16, 140.95, 134.01, 129.91, 129.39, 128.01, 126.98, 121.34, 119.40, 119.35, 79.01, 68.22, 68.01, 41.86, 21.69, 21.47 IR (neat) 3341.6, 1739.4, 1455.3, 1410.6, 1378.1, 1302.6, 1236.6, 1161.8, 1145.4, 1048.4, 757.53 cm^{-1}

10-(4-니트로페닐아세톡시)-8,9-디히드록시티몰 아세테이트(22-6)

Yield 36.7% R_f 0.36(헥산 : 에칠 아세테이트=2 : 1) $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.43 (s, 1H), 8.16~8.12 (m, 2H), 7.34~7.27 (m, 2H), 6.78 (d, 1H, $J=8$ Hz), 6.69 (d, 1H, $J=1$ Hz), 6.61~6.59 (m, 1H), 4.52~4.39 (m, 4H), 4.02 (s, 1H), 3.73 (s, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.08 (s, 3H) $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz,

CDCl₃) δ 172.26, 165.38, 157.16, 141.27, 135.42, 131.59, 126.83, 124.37, 121.55, 119.55, 119.24, 79.05, 69.28, 68.27, 21.70, 21.49 IR (neat) 1742.2, 1737.7, 1521.6, 1371.9, 1348.7, 1232.7, 1219.1, 1162.5, 757.35, 666.94 cm⁻¹

10-(4-플루오로페닐아세톡시)-8,9-디히드록시테롤 아세테이트(22-7)

Yield 42.3% R_f 0.40(핵산 : 에칠 아세테이트=2 : 1) ¹H-NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.53 (s, 1H), 7.26~7.23 (m, 2H), 6.99~6.96 (m, 2H), 6.80 (d, 1H, J=8 Hz), 6.70 (d, 1H, J=0.5 Hz), 6.61 (dd, 1H, J=1.5, 8 Hz), 4.49~4.50 (m, 4H), 4.04 (s, 1H), 3.59 (s, 2H), 2.28 (s, 3H), 2.06 (s, 3H) ¹³C-NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 172.15, 171.93, 157.18, 140.98, 131.52, 129.71, 126.96, 121.32, 119.41, 116.29, 116.12, 79.09, 68.29, 68.04, 40.95, 21.41 IR (neat) 3351.6, 1737.0, 1151.3, 1414.9, 1375.1, 1230.4, 1150.7, 1044.1, 426.1 cm⁻¹

Biochemistry

세포독성 검색

본 실험에 사용한 세포독성 검색방법은 1989년 미국의 국립암연구소(National Cancer Institute, NCI)에서 *in vitro* 항암활성을 측정하기 위하여 개발한 설프로다민 B 바이오어세이(Sulforhodamin B Bioassay; SRB) 방법을 사용하였다.

암세포배양

SRB 방법으로 실험에 사용한 암세포들은 다음과 같다.

- A549 : non small cell lungcarcinoma
- SK-OV-3 : adenocarcinoma, ovary malignant ascites
- SK-MEL-2 : malignant melanoma, metastasis to skin of thigh
- XF498 : central nerve system tumor
- HCT15 : colon adenocarcinoma

상기 암세포들은 모두 인간 종양세포주(human tumor cell line)로써 미국의 국립암연구소(NCI)로부터 분양 받아 한국화학연구소에서 계대 중인 것을 사용하였다. 배양액은 5% fetal bovine serum으로 보강된 RPMI 1640 medium을 사용하였으며, 37°C 항온, 항습 하의 5% CO₂ 인큐베이터에서 배양하였다. 세포의 계대는 3~4일에 1회씩 시행되었으며, 계대시 세포를 용기 부착면으로부터 탈리시키기 위하여 phosphate buffered saline(PBS)용액에 0.25% 트립신과 3 mM 트랜스-1,2-디아미노시클로헥산-n,n,n-테트라초산(CDTA)을 녹인 용액을 사용하였다.

시료의 조제

합성된 화합물의 세포독성측정은 화합물을 30.0 µg/ml, 10.0 µg/ml, 3.0 µg/ml, 1.0 µg/ml, 0.3 µg/ml, 0.1 µg/ml의 농도단계로 희석시킨 후 활성을 측정하였으며, 시료의 최고 농도는 30.0 µg/ml을 넘지 않았다. 검색용 시료들을 조제하

기 위하여 필요에 따라 DMSO(dimethylsulfoxide)를 사용하였으며, 이때 가해지는 DMSO의 농도는 0.5%를 넘지 않도록 하였다. 몇 단계로 희석된 시료용액은 암세포에 가하기 전에 milipore filter로 여과하여 무균 상태로 하여 A549, SK-OV-3, SK-MEL-2, XF498 및 HCT15 등의 human tumor cell line을 이용한 SRB법에 의한 세포독성 검색용 시료로 조제하였다.

활성측정

계대 중인 암세포들은 트립신-CDTA 용액으로 기기 부착면으로부터 탈리시킨 후에 96-well flat bottom microplate에 각 well 당 세포수가 5×10³(A549, HCT15), 1×10⁴(SK-MEL-2, XF498), 2×10⁴(SK-OV-3)이 되도록 하였다. 이렇게 분주된 암세포들은 CO₂ incubator내에서 배양하여 바닥에 부착시킨 후 aspirator로 media를 제거하고 6가지 농도의 log dose로 medium으로 희석한 검체 용액들을 암세포가 들어있는 well에 각 100 µl씩 3배수로 넣어주고, 48시간 동안 배양하였다. 48시간 배양 시킨 후에 각 well의 medium을 제거하고 10% trichloroacetic acid(TCA)를 100 µl씩 가하여 4°C에서 1시간 동안 방치하여 세포들을 plate의 바닥 면에 고정시켰다.

세포고정이 끝난 후에 plate를 증류수로 5~6회 세척하여 남아있는 TCA 용액을 완전히 제거하고 실온에서 남은 물기가 없도록 건조시켰다. 완전히 건조된 plate는 well당 100 µl의 1% 초산용액에 0.4% SRB 용액을 녹인 염색액을 가하여 30분간 세포를 염색한 후, 다시 1% 초산으로 5~6회 세척하여 세포에 결합하지 않은 과량의 SRB를 제거하였다. 이렇게 염색된 cell plate들을 다시 실온에서 건조한 후 well당 100 µl의 10 mM trisma base(비완충)용액을 가하고 titer plate shaker로 10분 동안 흔들어서 쉬고 염색액을 용출시키고 microplate reader를 사용하여 520 nm에서 흡광도를 측정하였다.

암세포들에 대한 시료의 세포독성효과를 계산하기 위하여, 시료를 가하는 시점에서의 암세포수(Tz, zero time)와 시료 대신 과량의 배지만을 가하여 48시간 배양했을 때의 세포수(C, control) 및 각 농도의 시료를 함께 넣고 48시간 배양했을 때의 세포수(T, test)를 각각 측정하여 다음의 수식에 따라 세포독성을 측정하였다.

$$Tz > T인 경우 : [(T - Tz)/(C - Tz)] \times 100$$

$$Tz < T인 경우 : [T - Tz]/Tz \times 100$$

위와 같이 계산된 값들을 로터스(LOTUS) 프로그램의 자료회귀방법(data regression tool)을 이용하여 시료가 암세포의 성장을 50% 억제하는 농도인 ED₅₀(50% effective dose)를 계산하였으며, 이 ED₅₀값으로 각 시료의 세포독성강도를 결정하는 parameter로 사용하였다.

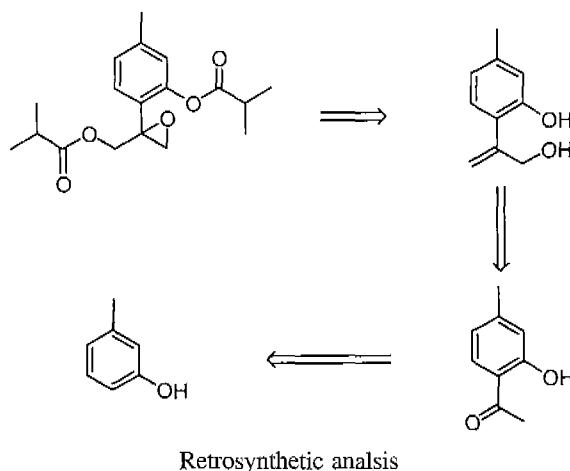
결과 및 고찰

천연물 선도물질의 합성

새로운 항암제의 개발을 위하여 우선적으로 긴담배풀에서 추출된 모노테르페노이드계 생리 활성물질에 대하여 *m*-cresol을 출발 물질로 합리적인 합성 경로를 구축한 후 다양한 유도체를 합성하였다.

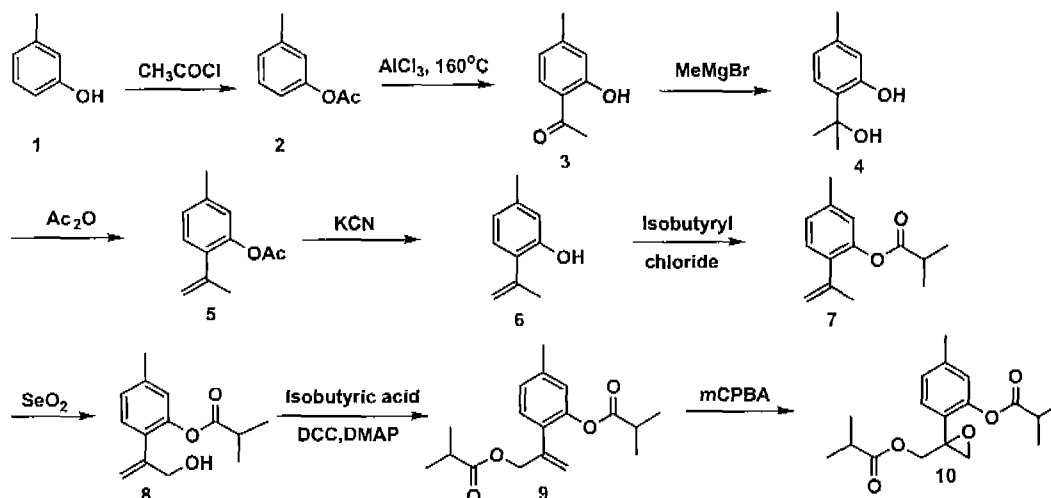
선도물질인 티몰의 합성을 위하여 다음과 같은 retrosynthetic analysis를 행하였다. 즉 *m*-cresol을 출발물질로 하여 대응하는 알릴 알콜을 합성하고 여기에 에폭시화 및 에스테르 반응을 행하여 본 천연물 선도물질을 합성하고자 하였다.

m-Cresol을 출발물질로 하여 아세틸 클로라이드를 반응하여 아세테이트 2를 93%의 수율로 얻었고 여기에 Fries 전위반응을 행하여 아세틸기가 *o*-위치로 선택적으로 전이된 아세토펜 3을 85%의 수율로 합성하였다. 얻어진 화합물 3으로부터 Grignard 시약을 이용하여 3급 알콜 4를 95%의 수율로 얻었고, 이 화합물을 무수 아세트산으로 처리하여 3급 알콜을 탈수합과 동시에 페놀성 알콜이 아세테이트화된 화합물 5를 88%의 수율로 얻을 수 있었다. 얻어진 5번 화합물을 염기 존재하에 시안화 칼륨으로 가수분해한 티몰 6을 96%의 수율로 합성한 후 이소부틸릴 클로라이드를 반응시켜 thymol isobutyrate 7을 90%의 수율로 합성하였다. 화합물 7을 셀레늄 디옥사이드로 처리하여 엑소메틸렌의 알릴 위치에 히드록시기가 도입된 화합물 8을 56%의 수율로 합성할 수 있었다. 얻어진 알릴 알콜에 이소부틸산을 반응시켜 말단에 에스테르기를 도입하였고, 얻어진 화합물 9에 산도를 염기성 상태로 조절한 상태에서 에폭시화제인 mCPBA를 반응시켜 원하는 선도물질을 얻었다.



o-Acetoxy epoxy compound의 합성

선도물질의 항암효과는 일반적인 알킬화제의 항암제에서 볼 수 있는 DNA의 guanine의 N원자의 비공유전자쌍의 친핵성에 의한 에폭사이드의 알킬레이션이 항암기전이라 사료되어 우선 알릴 알콜에 에스테르화 반응을 행하여 다양한 치환체를 붙이기로 결정하고 크게 2가지 방향으로 유도체화를 진행하였다. 첫째는 일반적인 알킬 시술로 친지성의 변화에 따른 약효의 변화를 살펴보고자 하였고 둘째는 방향족 화합물을 설정하여 전자의 분포도에 따른 약효의 변화를 살펴보고자 전자를 밀어주는 화합물과 전자를 당겨주는 화합물로 유도체화 하였다. 방향족 화합물의 경우에도 방향족 환이 직접 에스테르기에 도입되어 있는 벤조산 류와 탄소 한 개의 간격을 지닌 페닐아세트산 류의 유도체를 합성하고자 하였다. 천연물의 화학적 합성시 중간체인 화합물 5와 화합물 7의 경우 구조적으로 상당히 유사하면서 합성 단계를 줄일 수 있다는 장점이 있기 때문에



Scheme 1.

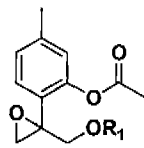


Fig. 2. Structure of *o*-acetoxy epoxy derivatives.

일차적으로 페놀성 히드록시기가 아세테이트로 치환된 유도체를 합성하였다.

천연물 선도 물질의 합성 중간체인 화합물 5의 알릴 알콜에 다양한 산을 도입하여 에스터화한 후 에폭시화 반응을 행하여 다음의 유도체를 합성하였다.

위에 수록된 유도체의 약효 검색시 최종 단계 전단계 물질인 화합물 12에 대해서도 세포독성을 검색하였으나 전혀 활성을 나타내지 않은 것으로 보아 에폭사이드가 활성에 필수적인 구조라 사려되고 R₁이 벤조산류인 경우에 세포독성이 거의 없는 반면에 페닐아세트산류인 경우 어느 정도의 활성을 나타내었다. 특히 4-니트로페닐아세트산 유도체인 경우 효과가 좋았기 때문에 이것이 니트로기의 electron withdrawing 효과인지 아니면 니트로기의 전하 효과인지를 알아보기 위하여 (Swenson, 1983) electron withdrawing 효과는 나타내지만 전하효과는 전혀 가지고 있지 않은 플루오로로 치환된 물질도 후에 합성하였는데, 플루오로 화합물이 니트로 화합물보다 다소 증가된 활성을 보였다. 이로써 말단 에스터기에는 전자를 끌어당겨 주는 치환체가 약효 증가에 기여함을 알 수 있다. 또한 포화탄화수소 유도체의 경우 방향족환의 경우에 비해 저조한 활성을 보였다. 탄소수가 많은 경우에 아세테이트나 이소부티레이트에 비해 활성이 낮았고, 플루오로가 도입된 방향족환이 효과가 좋았기 때문에 트리플루오로아세테이트를 합성하였으나 이 경우에는

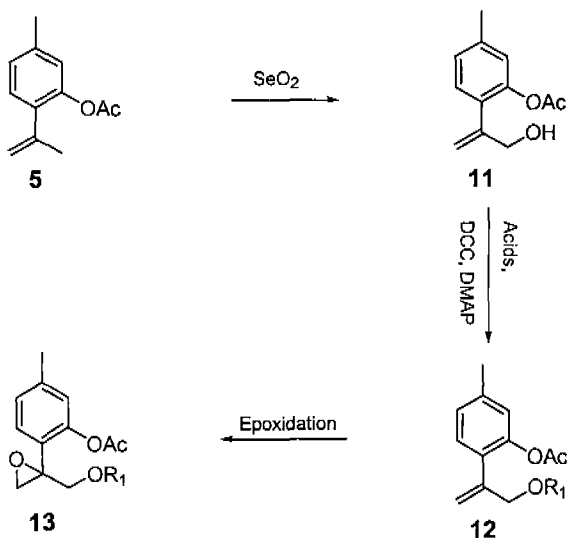


Fig. 3. Structure of *o*-isobutoxy epoxy derivatives.

Table I. List of synthesized compounds

Backbone	R ₁	Derivative	# of derivative
<i>o</i> -Acetoxy epoxy derivatives	Aromatic	Benzoyl	13-1
		4-Methoxybenzoyl	13-2
		Phenylacetyl	13-3
		4-Nitrophenylacetyl	13-4
		4-Fluorophenylacetyl	13-5
	Aliphatic	Acetyl	13-6
		Trifluoroacetyl	13-7
		Isobutyl	13-8
		Palmityl	13-9
<i>o</i> -Isobutoxy epoxy derivatives	Aromatic	Phenylacetyl	15-1
		4-Nitrophenylacetyl	15-2
	Aliphatic	4-Fluorophenylacetyl	15-3
		Acetyl	15-4
<i>p</i> -Acetoxy epoxy derivatives	Aromatic	Benzoyl	21-1
		Phenylacetyl	21-2
	Aliphatic	Isobutyl	21-3
Diol derivatives	Aromatic	4-methoxybenzoyl	22-1
		Benzoyl	22-2
		4-nitrobenzoyl	22-3
		4-methoxyphenylacetyl	22-4
		Phenylacetyl	22-5
		4-nitrophenylacetyl	22-6
		4-fluorophenylacetyl	22-7

electron withdrawing 기에 의한 활성 증가 현상은 관찰할 수 없었다.

o-Isobutoxy epoxy compound의 합성

페놀성 히드록시기가 아세테이트로 치환된 유도체에서 페닐아세테이트류가 활성이 우수하였기 때문에 천연물과 동일한 치환체인 이소부티레이트에 대해서는 페닐아세테이트류와 포화탄화수소 유도체 중 아세테이트만을 합성하였다.

합성방법은 선도물질 합성의 중간체인 화합물 8에 다음의 산을 도입하여 에스터 화합물을 합성한 후 앞에서 실시한 방법과 동일한 방법에 의하여 에폭시화를 수행하였다.

p-Acetoxy epoxy compound의 합성

선도 물질의 약리 기능단을 확인하기 위해서 말단 위치의 에폭사이드와 에스테르기는 유지하면서 페놀성 히드록시기와 메틸기를 변화시켜 전체적으로 방향족환의 치환체의 위치적인 관계를 변화시켰을 때 즉 conformation을 *ortho*에서 *para*로 변화시킨 Fig. 4에서의 구조를 기본 모형으로 하여 R₁를 변화시킨 유도체를 Scheme 1의 방법을 이용하여

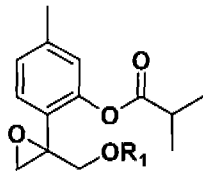


Fig. 3. Structure of *o*-isobutoxy epoxy derivatives.

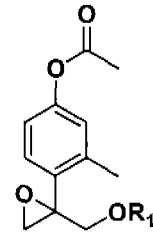
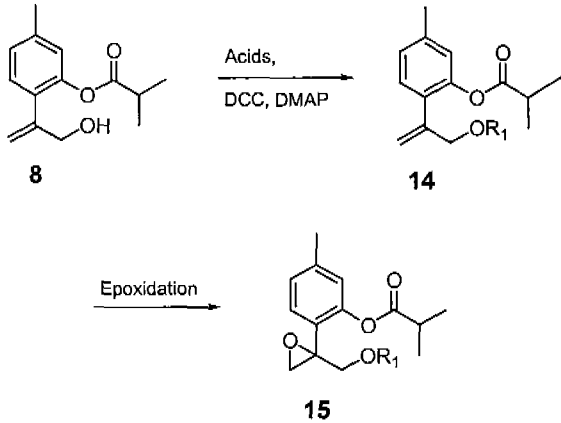


Fig. 4. Structure of *p*-acetoxy epoxy derivatives.



Scheme 3.

합성하고자 하였다.

화합물 2에서 Fries 반응을 행할 시에 온도변화에 따른 전이의 선택성을 이용하여 *p*-위치로 전이된 acetophenone 16을 출발물질로 하여 선도물질의 합성과 동일한 방법에 의하여 다양한 유도체를 합성하였다.

유도체의 활성 검색 결과로 미루어 볼 때 이 물질들은 tumor cell line에 대해서 전혀 활성을 나타내지 않은 것으로 보아 에스테르와 에폭사이드의 conformation이 ortho form으로 유지되는 것이 필수적이라는 것을 알 수 있다.

Diol 화합물의 합성

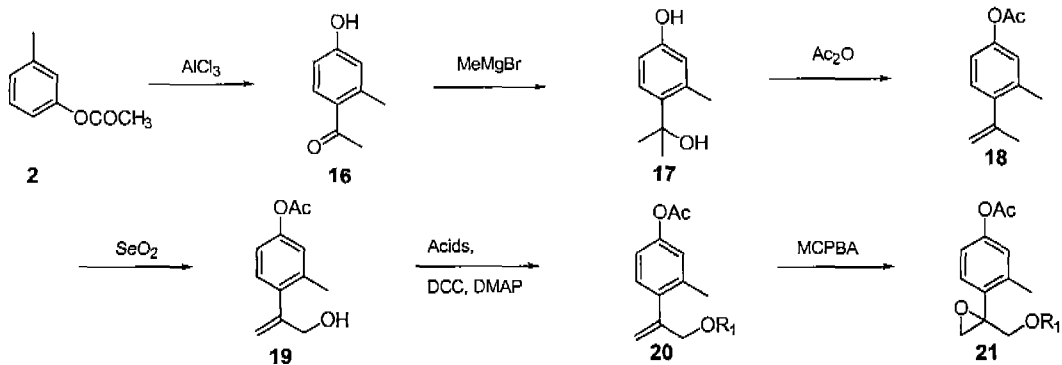
선도물질의 구조를 살펴 볼 때 여러 관능기 중 에폭사이드가 약효 발현에 필수적이고 이 관능기는 화학적으로 불안정하여 체내에서 쉽게 대사되리라 생각된다. 약물이 약효를

발현할 때에는 구조적인 변화 없이 투여된 형태 그대로 활성을 지니고 있는 경우도 있지만 대다수의 약물이 체내에 존재하는 여러 효소에 의해 대사 후 활성화된 후에만 약효를 나타내므로 에폭사이드의 대사체 중 한 물질이라 추측되는 물질을 합성하여 그 물질의 약효 발현율을 살펴보고자 하였다. 이 실험을 통해 선도물질의 활성형을 추정할 수 있으리라 생각되어 diol 유도체를 합성하게 되었다.

Scheme 3의 합성 중간체인 화합물 12에 사산화 오스mium을 이용하여 엑소메칠렌기에 에폭사이드가 아닌 diol기를 도입한 화합물 22를 평균수율 36~51%의 수율로 합성할 수 있었다.

In vitro 항암활성(세포독성) 검색 결과

전반적인 유도체의 합성과 그 것들의 생리 활성은 다음과 같다. 생리활성에 영향을 미치리라 사려되는 epoxy alcohol을 다양하게 에스테르로 변화시켜 여러 유도체와 선도물질을 합성하였다. *In-vitro* 세포독성을 비교한 결과 전반적으로 에폭사이드환은 유지되어야 그 약효가 발휘된다는 것을 알았고 *o*-위치의 이소부틸 에스테르를 아세틸 에스테르로 변화시킨 물질의 유도체는 중간체를 포함하여 총 20여종의 물질을 합성하였다. 말단의 에스테르기가 벤조산류인 경우는 활성이 미약하였고 페닐아세트산류의 경우가 전반적으로 활성이 우수하였다, 특히 페닐아세트산의 벤젠 고리내의 치환체 중 니트로기와 플루오로기가 활성이 좀 더 우수하였고 말단 에스테르기가 포화탄화수소 유도체인 경우



Scheme 4.

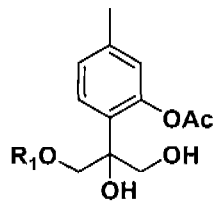
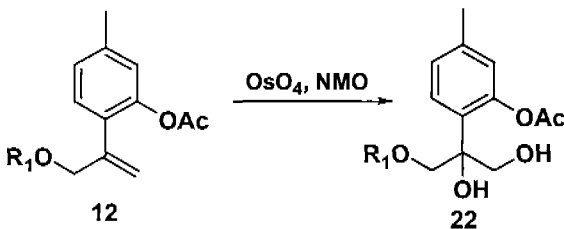


Fig. 5. Structure of diol derivatives.



Scheme 5.

Table II. Cytotoxic activity of thymol derivatives (ED₅₀/μM)

Sample	Cell line				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
13-1	92	66.4	41.5	-	37.3
13-2	43.7	26.6	14.4	-	30.1
13-3	42.9	70.1	8.9	-	41.4
13-4	38.4	74.4	7.8	-	33.1
13-5	44.3	58.1	16	-	84.2
13-6	56.1	74.4	6.9	-	56.4
13-7	>90	>90	>90	-	>90
13-8	59.5	>100	21.1	-	50.1
15-1	43.5	57.2	15.6	-	41.3
15-2	36.3	59.7	6.3	-	31.0
15-3	20.1	15.2	16.0	-	11.1
21-1	>100	>100	>100	>100	>100
21-2	>100	>100	>100	>100	>100
21-3	>100	>100	>100	>100	92.0
22-1	>90.0	38.3	14.9	63.2	15.0
22-2	>90.0	35.1	16.6	60.3	12.7
22-3	>90.0	19.6	10.9	40.9	10.4
22-4	>90.0	21.3	12.0	55.7	11.2
22-5	>90.0	39.8	14.8	59.9	11.6
22-6	>90.0	24.8	12.3	43.5	19.5
22-7	>90.0	24.2	10.8	55.9	12.2
선도물질	62.0	25.9	11.6	-	14.8

에는 선도물질에서 발견된 이소부티레이트보다 활성이 크게 나타나는 화합물은 없었다.

천연물에서 추출한 물질의 페놀성 히드록시기가 이소부티레이트로 되었기 때문에 아세테이트 유도체에서 효과가 우수하였던 말단의 히드록시기가 페닐아세트산류와 아세테이트로 치환된 유도체도 합성하였다. 세포 독성을 수행한 결과 마찬가지로 플루오로페닐아세테이트 유도체가 활성이 가

장 뛰어났고, 동일한 에스테르를 비교시 아세테이트보다는 활성이 다소 증가되었다.

Conformation에 변화를 준 *p*-acetoxy epoxy compound 유도체는 중간체를 포함하여 총 6종이 합성되어졌다. *In-vitro* 세포독성을 비교한 결과 conformation 변화 시 말단의 에스테르기가 앞서 *o*-isobutoxy epoxy compound와 *o*-acetoxy epoxy compound에서 비교적 좋은 약효를 보였던 4-플루오로페닐아세트산 유도체와 4-니트로페닐아세트산 유도체에서조차도 좋은 약효를 나타내지 않는 점으로 보아 약리기능단 간의 거리는 *o*-위치 일 때 최적이라는 것을 알 수가 있다.

에폭사이드가 체내에 들어가 대사되어 diol로 변화되리라 생각되어 합성해 보았는데, 이 경우에도 선도물질보다 활성이 크게 증가되지는 않았다. 그렇지만, 실험에 쓰인 cell lines 중 SK-MEL-2와 HCT15에 대해 선택적인 활성을 보여 주었다. 이는 화학적으로 불안정한 에폭사이드가 아닌 다른 관능기로도 항암제를 개발할 수 있다는 가능성을 제시해 준다.

상기 결과를 요약하면 에폭사이드환은 유지가 되면서 두 에스테르간의 거리는 *o*-conformation을 유지하고, 말단 에스테르는 전자를 끌어당기는 효과가 있는 페닐아세테이트이고, 에폭사이드가 아닌 다른 기능단에 의해서도 세포 독성을 나타내는 물질을 개발할 수 있는 가능성을 제시한다고 판단된다.

이와 같이 총 47종의 유도체가 합성되어지고 그에 따른 *In-vitro* 세포독성 결과로 치환기에 따른 구조 활성 관계를 정립하였고 이를 기초로 하여 향후 좀더 우수한 유도체의 합성에 유용하게 이용되어질 것으로 기대된다.

감사의 말씀

본 연구는 1998년부터 경기의약연구센터에서 지원한 신약개발과제의 일환으로 수행하였습니다.

참고문헌

Bohlmann, F., Niedballa, U. und Schulz, J. (1969). Über einige Thymolderivate aus *Gaillardia*-und *Helenium*-Arten. *Chem. Ber.* **102**, 864-871.

Crowell, P. L., Chang, R. R., Ren, Z., Elson, C. E. and Gould, M. N. (1991). Selective Inhibition of Isoprenylation of 21-26-kDa Proteins by the Anticarcinogen *d*-Limonene and Its Metabolites. *J. Biol. Chem.* **266**, 17679-17685.

Crowell, P. L., Ren, Z., Lin, S., Vedejs, E. and Gould, M. N. (1994). Structure-activity relationships among monoterpene inhibitors of protein isoprenylation and cell proliferation. *Biochem. Pharmacol.* **47**, 1405-1415.

Bohlmann, F. und Zdero, C. (1972). Neue Thymol-Derivate

- aus *Arnica amplexicaulis*. *Tetrahedron Letter*. **20**, 2827-2828.
- Blatt, A. H. (1942). The Fries Reaction. *Organic Reactions* **1**, 342-369.
- Cha, J. K., Christ, W. J. and Kishi, Y. (1983) On stereochemistry of osmium tetroxide oxidation of allylic alcohol systems empirical rule. *Tetrahedron Letter*. **24**, 3943-3946.
- Bohlmann, F. und Kocur, J. (1976). Synthese von 10-Acetoxy-8,9-epoxythymol-isobutyrat. *Chem. Ber.* **109**, 2969-2971.
- Passreiter, C. M., Matthiesen, U. and Willuhn, G. (1998). 10-Acetoxy-9-chloro-8,9-dehydrothymol and further thymol derivatives from *Arnica sachalinensis*. *Phytochemistry*. **49**, 777-781.
- Kim, E. J., Jin, H. K., Kim, Y. K., Lee, H. Y., Lee, S. Y., Lee, K. R., Zee, O. P., Han, J. W., Lee, H. W. (2001) Suppression by a sesquiterpene lactone from *Carpesium divaricatum* of inducible nitric oxide synthase by inhibiting nuclear factor-kappaB activation, *Biochemical Pharmacology*. **61**, 903-910.
- Zee, O. P., Kim, D. K., Choi, S. U., Lee, C. O., Lee, K. R. (1999) A new cytotoxic acyclic diterpene from *Carpesium divaricatum*. *Archives of Pharmacal Research*. **22**, 225-227.
- Zee, O. P., Kim, D. K., Lee, K. R. (1998) Thymol derivatives from *Carpesium divaricatum*. *Archives of Pharmacal Research*. **21**, 618-620.
- Zee, O. P., Kim, D. K., Lee, K. R. (1997) Sesquiterpene lactones from *Carpesium divaricatum*. *Phytochemistry*. **46**, 1245-1247.
- Kim, D. K., Baek, N. I., Choi, S. U., Lee, C. O., Lee, K. R., Zee, O. P. (1997) Four new cytotoxic germacranolides from *Carpesium divaricatum*. *Journal of Natural Products*. **60**, 1199-1202.
- Boon, P. J., van der Boon, D., Mulder, G. J. (2000) Cytotoxicity and biotransformation of the anticancer drug perillyl alcohol in PC12 cells and in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*. **167**, 55-62.
- Sahin, M. B., Perman, S. M., Jenkins, G., Clark, S. S. (1999) Perillyl alcohol selectively induces G0/G1 arrest and apoptosis in Bcr/Abl-transformed myeloid cell lines. *Leukemia: Official Journal of the Leukemia Society of America, Leukemia Research Fund, U.K.* **13**, 1581-1591.
- Büchi, G., Weinreb, S. M. (1971) Total syntheses of Aflatoxins M₁ and G₁ and an Improved Synthesis of Aflatoxin B₁. *Journal of the American Chemical Society*. **93**, 746-752.
- Umbreit, M. A., Sharpless, K. B. (1977) Allylic Oxidation of Olefins by Catalytic and Stoichiometric Selenium Dioxide with *tert*-Butyl hydroperoxide. *Journal of the American Chemical Society*, **99**, 5526.
- Warpehoski, M. A., Chabaud, B., Sharpless, K. B. (1982) Selenium Dioxide Oxidation of Endocyclic Olefins Evidence for a Dissociation-Recombination Pathway. *The Journal of Organic Chemistry*. **47**, 2897.
- Ceccherelli, P., Curini, M., Marcotullio, M. C., Rosati, O. (1989) Biogenetic-type transformation of 3-keto-4,5-epoxy-eudesmanes; synthesis of cyperanes, eremophilane and spirovetivanes. *Tetrahedron*. **45**, 3809.
- Loza-Tavera, H. (1999) Monoterpenes in essential oils. Biosynthesis and properties, *Advances in Experimental Medicine and Biology*, **464**, 49-62.
- Ren, Z., Gould, M. N. (1998) Modulation of small G protein isoprenylation by anticancer monoterpenes in in situ mammary gland epithelial cells. *Carcinogenesis*. **19**, 827-832.
- Ren, Z., Elson, C. E., Gould, M. N. (1997) Inhibition of type I and type II geranylgeranyl-protein transferases by the monoterpene perillyl alcohol in NIH3T3 cells. *Biochemical Pharmacology*. **54**, 113-120.
- Ren, Z., Elson, C. E., Gould, M. N. (1997) Inhibition of Type I and Type II Geranylgeranyl-Protein Transferases by the Monoterpene Perillyl Alcohol in NIH3T3 Cells. *Biochemical Pharmacology*. **54**, 113-120.
- Hohl, R. J. (1996) Monoterpenes as regulators of malignant cell proliferation. *Advances in Experimental Medicine and Biology*. **401**, 137-146.
- Haag, J D., Gould, M N. (1994) Mammary carcinoma regression induced by perillyl alcohol, a hydroxylated analog of limonene. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*. **34**, 477-483.
- Swenson, D. H. (1983) Significance of electrophilic reactivity and especially DNA alkylation in carcinogenesis and mutagenesis. *Developments in Toxicology and Environmental Science*. **11**, 247-254.