

제 출 문

한국해양과학기술원장 귀하

본 보고서를 “해양생물유래 암줄기세포 사멸 기능성 신소재의 발굴”과제의 최종보고서로 제출합니다.

2015. 03.

연구책임자 : 이 종 석

참여연구원 : 신준호, 설재희, 박술

보고서 초록

과제고유 번호	BSPE98986- 10700-3	해당단계 연구기간	2012.03.01 ~ 2014.04.30	단계 구분	통합
연구사업명	중사업명	개인창의 및 신진연구자 지원사업			
	세부사업명				
연구과제명	대과제명				
	세부과제명	해양생물유래 암줄기세포 사멸 기능성 신소재의 발굴			
연구책임자	이종석	해당단계 참여연구원수	총 : 명 내부: 명 외부: 명	해당단계 연구비	정부: 천원 기업: 천원 계 : 천원
		총연구기간 참여연구원수	총 : 4 명 내부: 1 명 외부: 3 명	총 연구비	정부:96,000 천원 기업: 천원 계 : 96,000 천원
연구기관명 및 소속부서명	한국해양과학기술원 해외생물자원연구센터		참여기업명		
요약				보고서 면수	95
<p>1. 해양생물유래 이차대사산물의 구조분석과 항암 활성측정을 통하여 유기화학적, 의약화학적 추가연구 필요성이 입증된 천연물을 선정하였음.</p> <p>2. 선정된 천연물에 대한 효율적 합성설계를 도출하고 이를 기반으로 전합성을 수행하였음.</p> <p>3. 천연물의 전합성을 위한 방법론으로서 금속촉매를 이용한 주요골격의 합성법을 개발하였음.</p> <p>4. 천연물과 유도체 합성을 통해 항암활성에 대한 구조-활성 상관관계연구(structure-activity relationship study)를 수행하였음.</p> <p>5. (+)-violapyrone C의 입체화학구조(stereochemistry)를 규명하였음.</p>					
색인어 (각 5개 이상)	한 글	해양생물, 해양천연물, 항암, 암줄기세포, 전합성			
	영 어	Marine organisms, Marine natural products, Anti-cancer, Cancer stem cell, Total synthesis			

요 약 문

I. 제 목

해양생물유래 암줄기세포 사멸 기능성 신소재의 발굴

II. 연구개발의 목적 및 필요성

현재 전세계적으로 암환자의 발생은 매년 1010 만 명에 이르고 있으며 암환자 중 600 만 명이 사망에 이르게 되어 전체 사망의 12% 정도를 차지하고 있다. 이러한 추세대로 라면 2020 년경에는 매년 1570 만 명의 암환자가 발생하고 1000 만 명이 암으로 사망할 것으로 추정된다. 암은 다른 질환에 비해 고가의 진단 및 치료비용으로 인한 직접비용의 크기가 크기 때문에 사회/경제적 측면에서도 매우 큰 국가적 부담으로 작용한다. 2002 년에 발표된 건강보험 통계자료에 의하면 암치료를 위한 직접의료비 부담이 1 조 1,309 억 원으로 총 진료비의 8.5% 정도를 차지하고 있을 뿐만 아니라 암 발생 후 사회/경제적 활동의 중단과 산업경쟁력의 약화, 재활 및 말기환자의 간병에 소요되는 간접비용은 직접비용의 2-3 배로 추정된다. 이러한 경제적 손실과 더불어 국가 경영의 측면에서 볼 때 암은 가장 중추적인 역할을 하는 연령의 국민에 대해 가장 중대한 건강상의 위협이 되고 있기 때문에 국가가 이러한 상황에 적극적으로 개입할 필요가 있다. 특히 우리나라의 경우 지난 반세기 동안 경제성장에 따른 환경문제, 서구화된 음식문화, 그리고 전반적인 평균 수명의 연장 등 급격한 사회/문화적 변화를 겪고 있어 암에 대한 통계수치상 자료는 훨씬 심각할 것으로 예상된다. 2002 년에는 전체 사망원인의 약 25.6%인 6 만 3 천여 명이 암으로 사망하였으며 이 숫자는 교통사고로 인한 사망의 6 배를 넘는다. 노령인구의 비율이 이미 고령화 사회의 기준점인 7%를 상회하여 계속 증가하고 있고 흡연, 잘못된 음식 등 암 발생의 위험요인들이 지난 20 여 년간 이미 증가해 온 것으로 미루어 보아 암 발생과 사망은 앞으로 계속 증가할 것으로 예상된다.

정상 줄기세포와 암줄기세포의 공통된 특징 중의 하나는 세포에서 약물을 밖으로 배출시킬 수 있는 능력인데, 이로 인해 암줄기세포는 쉽게 항암요법에 대한 내성을 갖게 된다. 따라서 '표적 치료제'같은 효과가 좋은 항암제를 써도 암이 재발하거나 전이될 수 있기 때문에 기존 치료법에 내성을 갖는 암 줄기세포를 타겟으로 하는 근본적인

치료법에 대한 연구/개발이 절실하다. 암줄기세포의 종양 형성이나 유지에서의 역할에 대해서는 아직까지 확실하게 밝혀진 것은 없기 때문에 정상 줄기세포에는 손상을 주지 않으면서 암줄기세포만을 표적으로 하는 치료를 효율적으로 수행하기 위해서는 암줄기세포의 유지와 조절에 중요한 분자생물학적인 특성이나 그 조절 경로에 대한 지식과 이해가 필요하다.

전세계적 항암제 시장은 2008 년 기준으로 700 억불 규모를 넘어서 지속적으로 증가하는 추세에 있다. 순수 합성에 기반을 둔 기존의 저분자화합물 중심의 항암제개발연구가 새로운 화학구조를 갖는 저분자화합물을 지속적으로 제시하는데 한계를 드러냄에 따라 다양한 화학종을 보유하고 있는 천연물이 새로운 돌파구로서 주목받고 있다. 특히 육상보다 다양한 생물종들이 수십억 년의 진화과정을 거치면서 종의 보존 수단으로 만들어내는 해양천연물은 독특한 화학구조와 새로운 단백질표적을 갖고 있을 가능성이 높아 이미 한계에 봉착한 신약개발에 새로운 대안을 제시할 수 있다. 이에 따라 세계 천연물의약품 시장은 연간 8-10%씩 지속적으로 성장하는 추세에 있으며, 천연물신약 연구개발은 신약 1 건 개발시 전세계적으로 연간 1-2 조원의 매출과 매출의 20-50% 순수익 창출이 가능한 높은 투자 효율성을 가진 고부가 가치산업이다. 예를 들면 해양천연물 유래 신물질 중 임상 혹은 전임상시험 중인 물질 45 종중 33 종(73%)에 대하여 항암제 후보 물질로 연구가 진행되고 있다. 현재 치료에 사용되는 의약품의 약 50% 정도가 천연물의약품이거나 천연물유래 단일물질일 정도로 천연물은 약물의 안전성 측면에서 우수하고, 개발기간이 짧아 성공가능성이 높다. 따라서 고등생물이나 해양 동식물 및 해양미생물 등의 생물자원 및 이를 이용하는 천연물 산업은 21 세기 바이오 산업의 핵심을 차지할 것으로 전망되어 이 분야에 대한 중요성은 더욱 부각되고 있는 실정이다.

결과적으로 선진국에 비하여 매우 취약하다고 평가되는 국내 신약개발 기반에서 천연물의약 개발에 대한 집중적 투자를 통하여 신약선진국으로 도약할 수 있는 발판을 마련할 수 있는 계기가 될 수 있을 것으로 예상된다.

Ⅲ. 연구개발의 내용 및 범위

1. 해양생물유래 이차대사산물의 구조분석과 항암 활성측정을 통하여 유기화학적, 의약화학적 추가연구 필요성이 입증된 천연물을 선정하였다.

2. 선정된 천연물에 대한 효율적 합성설계를 도출하고 이를 기반으로 전합성을 수행하였다.
3. 천연물의 전합성을 위한 방법론으로서 금속촉매를 이용한 주요골격의 합성법을 개발하였다.
4. 천연물과 유도체 합성을 통해 항암활성에 대한 구조-활성 상관관계연구(structure-activity relationship study)를 수행하였다.
5. (+)-violapyrone C의 입체화학구조(stereochemistry)를 규명하였다.

IV. 연구개발결과

1. 해양생물유래 이차대사산물의 구조분석과 항암 활성측정을 통하여 유기화학적, 의약화학적 추가연구 필요성이 입증된 streptochlorin 과 violapyrone 등 2 종의 연구대상 물질을 선정하였다.
2. 선정된 2 천연물에 대한 역합성분석(retrosynthetic analysis)을 수행하여 이들의 대량확보 및 유도체합성을 위한 효율적 합성설계를 도출하였다.
3. Violapyrone 의 주요 화학골격인 2-pyrone 의 합성을 위한 합성방법론으로서 금(gold)촉매를 이용한 효율적인 2-pyrone 합성법을 개발하였다.
4. 총 28 종의 streptochlorin, (+)-violapyrone C 및 이들의 유도체 합성을 통해 항암활성에 대한 합성물질의 기초적인 구조-활성 상관관계연구(structure-activity relationship study)를 수행하였으며 항암활성이 개선된 2 종의 유도체를 도출하였다.
5. 개발된 violapyrone 합성법을 기반으로 (+)-, (-)-violapyrone C 의 전합성에 성공하여 이들의 광회전도(optical rotation)를 측정하였으며 이 결과를 바탕으로 (+)-violapyrone C 의 입체화학구조(stereochemistry)를 규명하였다.

V. 연구개발결과의 활용계획

본 연구를 통해 도출된 streptochlorin, violapyrone 및 유도체들은 항암 의약후보물질 개발을 위한 선도물질로 활용될 수 있게 되었으며, 이는 원활한 물질공급의 어려움으로 후속연구 진입이 수월치 않은 해양천연물연구의 근원적 단점을 정밀화학적 방법으로 해결할 수 있음을 보여주는 좋은 예가 될 수 있다. 또한 이번 연구를 통해 개발된 금촉매를 이용한 2-pyrone 의 효율적 합성법은 2-pyrone 을 주요 화학골격으로 갖고 있는 천연물 또는 의약화학물질의 수월한 공급을 가능하게 하여 2-pyrone 기반 의약화학연구의 활성화에 기여할 것으로 기대하고 있다. 아울러 본 연구결과 얻어진 28 개의 해양천연물과 유도체들은 항암활성뿐 아니라 항노화, 항균, 항바이러스, 대사성질환 등 다른 생리활성을 보일 가능성이 높아 해양생물유래 이차대사산물을 이용한 해양생명공학 및 생의학 연구에 유용한 소재로 활용될 것이다.

S U M M A R Y

I . Title

Discovery of a Marine-Derived Cancer Stem Cell Apoptosis Inducer

II. Objective and Significance of the Study

Currently the number of cancer patients worldwide reached 10.1 million and claims 6 million deaths annually, accounting for 12% of all deaths. If this trend continues, the estimated annual cancer incidence would be increased to 15.7 million globally and 10 million people will die of cancer as of 2020. Compared to other diseases, cancer is unequivocally the expanding national burden from a socioeconomic perspective because of the high direct costs of expensive diagnostics and treatment costs. According to the health insurance statistics published in 2002, direct medical costs for the treatment of cancer exceeded 1.1 trillion won, which accounts for 8.5% of the total medical fee. Moreover, the indirect costs caused by cancer, including disruption of economic activities, rehabilitation and care of terminally ill patients, weakening of industrial competitiveness are estimated to 2-3 times the direct costs. In addition to these economic losses, from a government's point of view, cancer is the most serious health threats to the people in the age group with the most pivotal role in a country. Therefore, an active government involvement in these socioeconomic problems caused by the cancer is necessary. In particular, Korea is currently experiencing a rapid social/cultural change resulted from environmental problems due to the rapid economic growth over the past half-century, the westernized food culture, and the extended overall life expectancy. Thus the statistics on the numerical data of cancer is expected to be much more serious. In 2002, 63 thousand people, approximately 25.6% of all deaths died of cancer, which is more than six times the deaths from traffic accidents. The proportion of older people

continues to increase and has already exceeded 7% which is the demographic trend of an aging society. Judging by the fact that the risk factors of cancer such as smoking, bad food, etc. have increased over the past 20 years, cancer incidence and death rate of cancer are expected to continue to increase in the future.

One common feature of normal stem cells and CSCs is the ability to efflux the drug from the cell, leading to a resistance of CSCs to anti-cancer therapy. Therefore, recurrence or metastasis of cancer often occurs after an effective chemotherapy such as 'targeted therapies',urgently requiring development of the fundamental treatments that target cancer stem cells resistant to conventional therapies. Because there is no proven evidence yet to link CSCs and tumor formation or maintenance, it is important to have knowledge and understanding of the molecular biology, underlying the maintenance and the regulation of CSCs for a successful treatment targeting CSCs without damaging normal cells.

Global anti-cancer market has reached over 70 billion dollars in size by 2008 and this will continue to grow in the future. As the classical development strategy of the anticancer drug based on synthetic small molecules has apparently faced a limitation to present a sustainable drug pipeline with novel chemical structures, natural products have received considerable attention as a breakthrough. In particular, the biodiversity of the ocean is greater than that anywhere else on the planet. Therefore, marine organisms produce a variety of structurally unique secondary metabolites as a means of preserving species evolved over several billions of years. This resulted in the high possibility of finding new protein targets, proposing an alternative strategy to the current drug discovery program. Accordingly, the natural products pharmaceutical market continues to grow gradually at an annual rate of 8-10%, and the natural products drug discovery is a higher value-added business with high investment efficiency of 20-50% net revenue as one marketed drug can create 1-2 trillion won of annual sales worldwide. For example, anticancer drug discovery is underway using 33 of 45 marine natural products currently under clinical or pre-clinical trial. Approximately 50% of the drugs currently used for treatment is natural products or single compounds derived from natural substances. Comparative safety

and shorter development period of natural products can provide high success rate. Therefore, biological resources including higher organisms, marine flora, marine bacteria, and the natural substance industry are expected to be at the forefront of the 21st century biotechnology industry and therefore, the importance of this research field is becoming even more magnified.

As a result, considering the weakness in the drug discovery compared to the leading countries, it is expected to be an opportunity to quickly gain a foundation of the drug discovery by an intensive investment in the natural products drug discovery to be rated as very weak compared to the developed world.

III. Contents and Scope of the Study

1. Natural products were selected for further studies through structural analysis and anticancer assay of secondary metabolites derived from marine organisms.
2. Efficient synthetic strategies for the selected natural products were designed and the total syntheses were accomplished.
3. A metal catalyzed reaction for the total synthesis of the natural product was developed.
4. SAR (structure–activity relationship) was studied via the synthesis of the natural products and their derivatives.
5. Stereochemistry of (+)–violapyrone C were validated.

IV. Results of the Study

1. Streptochlorin and violapyrone, marine–derived secondary metabolites were selected through structural analysis and anticancer assay for the further investigation.

2. By performing a retrosynthetic analysis on the selected compounds, efficient synthetic strategies were obtained.

3. Gold-catalyzed 2-pyrone synthesis was developed for the synthesis of the key scaffold of violapyrone.

4. 28 of streptochlorin, (+)-violapyrone C and their analogs were synthesized and a preliminary SAR study was carried out, providing 2 derivatives which have improved anti-cancer activity.

5. Based on the developed violapyrone synthesis, (+)-, (-)-violapyrone C were successfully synthesized and the optical rotations of these compounds were measured, validating the stereochemistry of (+)-violapyrone C.

V. Conclusion and Discussion

Streptochlorin, violapyrone and their derivatives derived from this study have been able to serve as a lead compound for the development of an anti-cancer agent. This can be a good example to show that the inherent difficulty in the follow-up studies using marine natural products, especially material supply problem can be overcome via fine chemistry.

In addition, efficient synthesis of 2-pyrone by using a gold catalyst will enable the sustainable supply of natural products or medicinally important materials, facilitating 2-pyrone-based drug discovery. Moreover, 28 molecules derived from this study have anticancer activity but also they are likely to have other bioactivity such as anti-aging, anti-bacterial, anti-viral, metabolic diseases. In conclusion, these molecules can be served as important materials for marine biotechnology and biomedical research in the future.

(KEYWORDS : 해양생물, 해양천연물, 항암, 암줄기세포, 전합성, Marine organisms, Marine natural products, Anti-cancer, Cancer stem cell, Total synthesis)

목 차

제 출 문	1
보고서 초록	2
요 약 문	4
S U M M A R Y	8
목 차	12
C O N T E N T S	14
그림목차	16
표목차	21
제 1 장 연구개발과제의 개요	22
제 1 절 연구개발의 필요성	22
1. 기술적 측면	22
2. 경제, 산업적 측면	23
3. 사회, 문화적 측면	24
제 2 절 연구의 목표 및 범위	24
제 2 장 국내외 기술개발 현황	25
제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과	27
제 1 절 Streptochlorin	27
1. 유도체 합성 전략	28
2. 연구결과	29
3. 실험방법 및 데이터	32
제 2 절 Violapyrone	66
1. 서론 및 합성 전략	66
2. 연구결과	67
3. 실험방법 및 데이터	2
제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 관련분야 기여도	21

제 5 장 연구개발결과의 활용계획 23

제 6 장 참고문헌 24

C O N T E N T S

REPORT ABSTRACT	2
SUMMARY (KOREAN)	4
S U M M A R Y (ENGLISH)	8
CONTENTS (KOREAN)	12
C O N T E N T S (ENGLISH)	14
LIST OF FIGURES	16
LIST OF TABLES	21
CHAPTER 1. OUTLINE OF THE STUDY	22
SECTION 1. SIGNIFICANCE OF THE STUDY	22
1. TECHNOLOGICAL ASPECTS	22
2. ECONOMIC, INDUSTRIAL ASPECTS	23
3. SOCIAL, CULTURAL ASPECTS	24
SECTION 2. OBJECTIVE AND SCOPE OF THE STUDY	24
CHAPTER 2. DOMESTIC AND INTERNATIONAL TRENDS	25
CHAPTER 3. RESULTS AND DISCUSSION	27
SECTION 1. Streptochlorin	27
1. SYNTHETIC STRATEGY OF ANALOGUES	28
2. RESULTS	29
3. EXPERIMENTS AND DATA	32
SECTION 2. Violapyrone	66
1. INTRODUCTION AND SYNTHETIC STRATEGY	66
2. RESULTS	67
3. EXPERIMENTS AND DATA	2
CHAPTER 4. ACHIEVEMENT OF THE STUDY AND CONTRIBUTION TO RELATED FIELDS	21
CHAPTER 5. APPLICATION OF THE RESULTS	23

CHAPTER 6. REFERENCES 24

그림목차

FIGURE 1. STREPTOCHLORIN의 구조와 LIPINSKI 법칙	27
FIGURE 2. STREPTOCHLORIN 유도체의 합성전략	28
FIGURE 3. STREPTOCHLORIN의 역합성분석	28
SCHEME 1. VAN LEUSEN 옥사졸 합성법을 이용한 STREPTOCHLORIN 유도체 합성	29
SCHEME 2. ROBINSON-GABRIEL 고리화반응을 이용한 STREPTOCHLORIN 유도체 합성	30
FIGURE 4. 인돌 2번 위치의 치환기에 따른 입체배좌의 변화	31
FIGURE 5. 인돌 2번 위치의 치환기에 따른 입체배좌의 변화	31
FIGURE 6. 구조-활성 관계연구 전략	32
FIGURE 7. 합성된 대표적 STREPTOCHLORIN 유도체와 항암활성	32
FIGURE 8. ¹ H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 1A	44
FIGURE 9. ¹³ C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 1A	44
FIGURE 10. ¹ H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 1B	45
FIGURE 11. ¹³ C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 1B	45
FIGURE 12. ¹ H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 1B	46
FIGURE 13. ¹ H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 1C	47
FIGURE 14. ¹³ C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 1C	47
FIGURE 15. ¹ H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 2A	48
FIGURE 16. ¹³ C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 2A	48
FIGURE 17. ¹ H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 2B	49

FIGURE 18. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 2B	49
FIGURE 19. ^{19}F NMR SPECTRUM OF COMPOUND 2B	50
FIGURE 20. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 2C	51
FIGURE 21. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 2C	51
FIGURE 22. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 4A	52
FIGURE 23. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 4A	52
FIGURE 24. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 4D	53
FIGURE 25. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 4D	53
FIGURE 26. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 6A	54
FIGURE 27. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 6A	54
FIGURE 28. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 6B	55
FIGURE 29. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 6B	55
FIGURE 30. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 6C	56
FIGURE 31. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 6C	56
FIGURE 32. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 6D	57
FIGURE 33. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 6D	57
FIGURE 34. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7A	58
FIGURE 35. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7A	58
FIGURE 36. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7B	59
FIGURE 37. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7B	59
FIGURE 38. ^{19}F NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7B	60

FIGURE 39. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7C	61
FIGURE 40. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7C	61
FIGURE 41. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7D	62
FIGURE 42. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7D	62
FIGURE 43. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7E	63
FIGURE 44. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7E	63
FIGURE 45. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7F	64
FIGURE 46. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7F	64
FIGURE 47. ^1H NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7G	65
FIGURE 48. ^{13}C NMR SPECTRUM OF COMPOUND 7G	65
FIGURE 49. VIOLAPYRONE 계열 대표구조	66
FIGURE 50. (+)-VIOLAPYRONE C의 역합성 분석	67
SCHEME 3. (+)-VIOLAPYRONE C의 합성도-PART I	68
SCHEME 4. (+)-VIOLAPYRONE C의 합성도-PART II	69
SCHEME 5. 합성된 VIOLAPYRONE 유도체	2
FIGURE 51. 합성된 VIOLAPYRONE C의 OPTICAL ROTATION 비교	2
FIGURE 52. ^1H NMR SPECTRA OF 4-(BENZYLOXY)BUTANAL (19) IN CDCl_3	7
FIGURE 53. ^{13}C NMR SPECTRA OF 4-(BENZYLOXY)BUTANAL (19) IN CDCl_3	7
FIGURE 54. ^1H NMR SPECTRA OF 17 IN CDCl_3	8
FIGURE 55. ^{13}C NMR SPECTRA OF 17 IN CDCl_3	8
FIGURE 56. ^1H NMR SPECTRA OF 20 IN CDCl_3	9

FIGURE 57. ^{13}C NMR SPECTRA OF 20 IN CDCl_3	9
FIGURE 58. ^1H NMR SPECTRA OF (S)-6-METHYLOCTAN-1-OL (21) IN CDCl_3	10
FIGURE 59. ^{13}C NMR SPECTRA OF (S)-6-METHYLOCTAN-1-OL (21) IN CDCl_3	10
FIGURE 60. ^1H NMR SPECTRA OF 22 IN CDCl_3	11
FIGURE 61. ^{13}C NMR SPECTRA OF 22 IN CDCl_3	11
FIGURE 62. ^1H NMR SPECTRA OF (S)-7-METHYLNON-1-YNE (23) IN CDCl_3	12
FIGURE 63. ^{13}C NMR SPECTRA OF (S)-7-METHYLNON-1-YNE (23) IN CDCl_3	12
FIGURE 64. ^1H NMR SPECTRA OF 24 , 25 IN CDCl_3	13
FIGURE 65. ^{13}C NMR SPECTRA OF 24 , 25 IN CDCl_3	13
FIGURE 66. ^1H NMR SPECTRA OF (+)-VIOLAPYRONE C (8) IN CD_3OD	14
FIGURE 67. ^{13}C NMR SPECTRA OF (+)-VIOLAPYRONE C (8) IN CD_3OD	14
FIGURE 68. ^1H NMR SPECTRA OF 12 , 13 IN CDCl_3	15
FIGURE 69. ^{13}C NMR SPECTRA OF 12 , 13 IN CDCl_3	15
FIGURE 70. ^1H NMR SPECTRA OF VIOLAPYRONE I (14) IN CD_3OD	16
FIGURE 71. ^{13}C NMR SPECTRA OF VIOLAPYRONE I (14) IN CD_3OD	16
FIGURE 72. ^1H NMR SPECTRA OF 27 IN CDCl_3	17
FIGURE 73. ^{13}C NMR SPECTRA OF 27 IN CDCl_3	17
FIGURE 74. ^1H NMR SPECTRA OF (R)-7-METHYLNON-1-YNE (28) IN CDCl_3	18
FIGURE 75. ^{13}C NMR SPECTRA OF (R)-7-METHYLNON-1-YNE (28) IN CDCl_3	

..... 18

FIGURE 76. ^1H NMR SPECTRA OF (R)-METHYL 8-METHYLDEC-2-YNOATE
(**29**) IN CDCl_3 19

FIGURE 77. ^{13}C NMR SPECTRA OF (R)-METHYL 8-METHYLDEC-2-YNOATE
(**29**) IN CDCl_3 19

FIGURE 78. ^1H NMR SPECTRA OF (-)-VIOLAPYRONE C (**9**) IN CD_3OD 20

FIGURE 79. ^{13}C NMR SPECTRA OF (-)-VIOLAPYRONE C (**9**) IN CD_3OD 20

표목차

TABLE 1. 금속촉매를 이용한 2-PYRONE 합성	69
--	----

제 1 장 연구개발과제의 개요

제 1 절 연구개발의 필요성

암은 1 억 5 천만 년 전, 지구를 지배했던 육식공룡인 아로사우루스의 뼈에서 발견될 정도로 지구상 생명체의 진화의 역사와 함께한 오래된 질병이다. 현재 전세계적으로 암환자의 발생은 매년 1010 만 명에 이르고 있으며 암환자 중 600 만 명이 사망에 이르게 되어 전체 사망의 12% 정도를 차지하고 있다. 이러한 추세대로 라면 2020 년경에는 매년 1570 만 명의 암환자가 발생하고 1000 만 명이 암으로 사망할 것으로 추정된다. 특히 지난 반세기 동안 경제성장에 따른 환경문제, 서구화된 음식문화, 그리고 전반적인 평균 수명의 연장 등 급격한 사회/문화적 변화를 겪은 우리나라의 경우 암에 대한 통계수치상 자료는 훨씬 심각하여 2002 년에는 전체 사망원인의 약 25.6%인 6 만 3 천여 명이 암으로 사망하였으며 이 숫자는 교통사고로 인한 사망의 6 배를 넘는다. 노령인구의 비율이 이미 고령화 사회의 기준점인 7%를 상회하여 계속 증가하고 있고 흡연, 잘못된 음식 등 암 발생의 위험요인들이 지난 20 여 년간 이미 증가해 온 것으로 미루어 보아 암 발생과 사망은 앞으로 계속 증가할 것으로 예상된다.

1. 기술적 측면

○ 정상 줄기세포와 암줄기세포의 공통된 특징 중의 하나는 세포에서 약물을 밖으로 배출시킬 수 있는 능력인데, 이로 인해 암줄기세포는 쉽게 항암요법에 대한 내성을 갖게 된다. 따라서 ‘표적 치료제’ 같은 효과가 좋은 항암제를 써도 암이 재발하거나 전이될 수 있기 때문에 기존 치료법에 내성을 갖는 암 줄기세포를 타깃으로 하는 근본적인 치료법에 대한 연구/개발이 절실하다.

○ 암줄기세포의 종양 형성이나 유지에서의 역할에 대해서는 아직까지 확실하게 밝혀진 것은 없기 때문에 정상 줄기세포에는 손상을 주지 않으면서 암줄기세포만을 표적으로 하는 치료를 효율적으로 수행하기 위해서는 암줄기세포의 유지와 조절에 중요한 분자생물학적인 특성이나 그 조절 경로에 대한 지식과 이해가 필요하다.

○ 현재 치료에 사용되는 의약품의 약 50% 정도가 천연물의약품이거나 천연물유래 단일물질일 정도로 천연물은 약물의 안전성 측면에서 우수하고, 개발기간이 짧아 성공가능성이 높다. 따라서 선진국에 비하여 매우 취약하다고 평가되는 국내 신약개발

기반에서 천연물의약 개발에 대한 집중적 투자를 통하여 신약선진국으로 도약할 수 있는 발판을 마련할 수 있는 계기가 될 수 있을 것으로 예상된다.

○ 순수 합성에 기반을 둔 기존의 저분자화합물 중심의 항암제개발연구가 새로운 화학구조를 갖는 저분자화합물을 지속적으로 제시하는데 한계를 드러냄에 따라 다양한 화학종을 보유하고 있는 천연물이 새로운 돌파구로서 주목받고 있다. 특히 육상보다 다양한 생물종들이 수십억 년의 진화과정을 거치면서 종의 보존 수단으로 만들어내는 해양천연물은 독특한 화학구조와 새로운 단백질표적을 갖고 있을 가능성이 높아 이미 한계에 봉착한 신약개발에 새로운 대안을 제시할 수 있다.

○ 천연물은 그 자체의 물리적 특성으로 인해 대사안정성 (metabolic stability), 생체이용율(bioavailability), 효능(efficacy) 면에서 바로 약물로 쓰기에는 한계를 보이는 경우가 많다. 특히 물질의 획득 면에서 해양천연물의 낮은 수득율로 인해 연구에 필요한 물질의 공급에 제한이 많아 천연물 자체로 후보물질을 도출하는 데 어려움이 있다. 따라서 대부분의 천연물 기반 신약개발과정에서는 천연물의 효율적 화학적합성법개발과 구조-활성 관계(structure-activity relationship) 연구를 통한 물리적 특성이 개선된 유도체 개발이 병행되고 있다.

2. 경제, 산업적 측면

○ 전세계적 항암제 시장은 2008 년 기준으로 700 억불 규모를 넘어서 지속적으로 증가하는 추세에 있으며, 2004 년 조사된 자료에 의하면 해양천연물 유래 신물질 중 임상 혹은 전임상시험 중인 물질은 약 45 종 정도이며 이중 항암제 후보 물질은 33 종(73%)에 이르고 있다.

○ 세계 천연물의약품 시장은 연간 8-10%씩 지속적으로 성장하는 추세에 있으며, 천연물신약 연구개발은 신약 1 건 개발시 전세계적으로 연간 1-2 조원의 매출과 매출의 20-50% 순수익 창출이 가능한 높은 투자 효율성을 가진 고부가 가치산업이다. 따라서 고등생물이나 해양 동식물 및 해양미생물 등의 생물자원 및 이를 이용하는 천연물 산업은 21 세기 바이오 산업의 핵심을 차지할 것으로 전망되어 이 분야에 대한 중요성은 더욱 부각되고 있는 실정이다.

3. 사회, 문화적 측면

○ 암은 다른 질환에 비해 고가의 진단 및 치료비용으로 인한 직접비용의 크기가 크기 때문에 사회/경제적 측면에서도 매우 큰 국가적 부담으로 작용한다. 2002 년에 발표된 건강보험 통계자료에 의하면 암치료를 위한 직접의료비 부담이 1 조 1,309 억 원으로 총 진료비의 8.5% 정도를 차지하고 있을 뿐만 아니라 암 발생 후 사회/경제적 활동의 중단과 산업경쟁력의 약화, 재활 및 말기환자의 간병에 소요되는 간접비용은 직접비용의 2-3 배로 추정된다. 이러한 경제적 손실과 더불어 국가 경영의 측면에서 볼 때도 암은 가장 중추적인 역할을 하는 연령의 국민에 대해 가장 중대한 건강상의 위협이 되고 있기 때문에 국가가 이러한 상황에 적극적으로 개입할 필요가 있다.

○ 항암화학요법은 반복적인 장기간의 치료로 광범위한 세포파괴를 유발하기 때문에 환자들은 치료를 받는 동안이나 치료가 끝난 후에도 전신적인 부작용을 경험하게 된다. 즉, 피로나 통증, 오심 및 구토, 발열, 구내염, 우울, 변비, 설사, 기능상태의 손상, 부정적인 정서나 기분 상태의 지속, 일상 활동 기능의 어려움이나 장애 등을 경험하게 되며, 단순한 증상의 경험이 아니라 상실감을 갖게 하기도 한다. 따라서 환자와 가족의 삶의 질 더 나아가서 사회적인 문제를 초래할 수 있는 항암치료의 부작용을 최소화하고 치료효과가 뛰어난 함암제의 개발이 시급한 실정이다.

제 2 절 연구의 목표 및 범위

○ 암줄기세포를 타겟으로 하는 스마트 항암신약개발을 위한 기초원천 기술로서, 해양 천연물을 기반으로 하는 다양한 유도체들의 합성법 개발

○ 암줄기세포 만을 타겟으로 성장억제 및 사멸을 유도하는 해양천연물 기반 집속라이브러리(focused library) 구축

○ 천연물 유도체를 이용한 구조-활성관계 연구를 위해 암줄기세포에 대한 각 화합물의 활성을 측정하고, 이를 기반으로 암줄기세포에 대해 더욱 개선된 활성을 보이는 성장억제 및 사멸유도 물질 도출

○ 항암효과를 나타내는 해양천연물 streptochlorin 의 화학적으로 새로운 합성방법 개발 및 이를 이용한 다양한 유도체의 효율적 확보

○ 천연물 유도체를 이용한 구조-활성관계 연구를 위해 암줄기세포에 대한 각 화합물의 활성을 측정하고, 이를 기반으로 암줄기세포에 대해 더욱 개선된 활성을 보이는 성장억제 및 사멸유도 물질 도출

제 2 장 국내외 기술개발 현황

○ 불과 몇 년 전만 해도 의학계에서조차 ‘암 줄기세포’ 이론은 생소한 것이었지만 이제는 눈에 보이는 암세포뿐만 아니라 숨어 있는 암 줄기세포까지 없애는 방향으로 암 치료 패러다임 자체를 전환해야 한다는 전문가들이 늘고 있다.

○ 발생한 암세포는 거의 같은 성질을 지니면서 무한정 분열한다고 인식되어왔으나 최근 연구에서는 같은 종양에서도 상당히 다른 이질성 (heterogeneity)이 존재한다는 증거들이 밝혀지기 시작하였는데, 이러한 암세포들의 이질성은 암 치료를 어렵게 만드는 요인 중 하나이다.

○ 전통적으로 암의 발생은 정상세포 내에 존재하는 특정 유전자의 불안정성 또는 외부의 환경적 요인에 기인한 일련의 연속적인 돌연변이에 의해 비롯된다는 것이 정설로 받아들여져 왔다. 그러나 최근 정상세포의 자연수명이 유전적 돌연변이로부터 악성종양으로 발전하기까지 필요한 시간에 비해 매우 짧다는 사실이 밝혀지면서 전통적인 암발생 모델로는 암을 제대로 설명할 수 없다는 인식이 보편적으로 받아들여지고 있다.

○ 다양한 항암 치료법과 방사선 치료법이 지속적으로 개발되고 있음에도 불구하고 위암과 폐암 간암 대장암 뇌암 등과 같이 덩어리를 만들며 자라는 수많은 고형암은 치료 후 빈번히 발생하는 재발과 전이로 인해 환자가 사망에 이르게 되는 완치가 어려운 형태의 암이다. 이러한 고형암의 재발과 전이의 원인이 암줄기세포라는 새로운 이론과 여러 증거들이 2000 년 초부터 본격 제기되고 있다.

○ 1875 년 Cohnheim 에 의해 제안되었던 암줄기세포 가설은 Bonnet 과 Dick 이 급성 골수성 백혈병에 암줄기세포가 존재함을 실험적으로 증명한 1997 년에 이르러서야 비로소 진일보하게 되었다. 줄기세포 생물학이 발달하게 된 최근에는 Al-Hajj 등이

유방암에서 암줄기세포를 증명하면서 고형 암중에서도 줄기세포가 존재하고 있음을 확신하게 되었다.

○ 2007 년 다국적 제약사인 GSK 가 암줄기세포 표적 항체 치료 기술 개발을 위해 '온코메드'를 14 억달러에 인수합병한 것에서 알 수 있듯이 암환자의 암줄기세포 특징을 분석하고 그 정보를 이용해 가장 적합한 치료법을 찾아가는 개인맞춤형 암줄기세포 표적치료로 암치료의 연구방향이 진화돼 가고 있다.

○ 2008 년 과학기술정책연구원 조사에 의하면 국내 암 연구 분야 투자액은 1284 억 원으로, 이는 같은 해 바이오 분야 투자액의 5.2%에 해당된다. 항암제 연구에 투자된 연구비는 337 억원으로 바이오 분야 투자액의 1.4%, 신약개발 투자액의 5.4%에 해당한다. 이는 전체 질환에서 차지하는 암의 중요성을 감안할 때 매우 적은 비중이다.

○ 갈수록 어려워지는 신약개발 환경에서 천연자원을 활용해 글로벌 시장에서 무한가치를 창출할 수 있다는 기대감 때문에 합성신약 및 제네릭 개발에 집중하던 국내 신약연구가 근래들어 천연물신약 개발 및 글로벌화를 위해 많은 노력을 기울이고 있다.

○ 최근 국내에서도 삼성의료원, 세브란스 의료원등 대형병원과 중외제약, 코미팜등 제약사를 중심으로 암줄기세포를 타겟으로 하는 신개념의 암치료제 개발을 하고 있다.

제 3 장 연구개발 수행 내용 및 결과

제 1 절 Streptochlorin

Streptochlorin 은 강원도 고성군 아야진항 인근 수심 1m 깊이의 퇴적층에서 분리된 *Streptomyces* 속에 속하는 04DH110 라고 명명된 변종 박테리아의 배양액에서 추출되어 2007 년도에 학계에 보고된 해양천연물이다(Journal of Microbiology and Biotechnology, 2007, 17, 1403). 화학구조적인 관점에서 볼 때 streptochlorin 은 인돌(indole)과 옥사졸(oxazole) 두 개의 헤테로고리가 탄소-탄소 sp³ 결합을 중심으로 연결된 하이브리드 형태를 이루고 있는 독특한 화학구조를 갖고 있으며, streptochlorin 은 신약개발과정에서 특정 화합물의 경구투여 약물로서의 개발 가능성을 평가하는 초기 판단 근거인 Lipinski 의 법칙을 만족시켜 특정 질병에 대한 효과가 입증될 시 경구투여 치료제로서의 개발 가능성이 크다(Fig. 1).

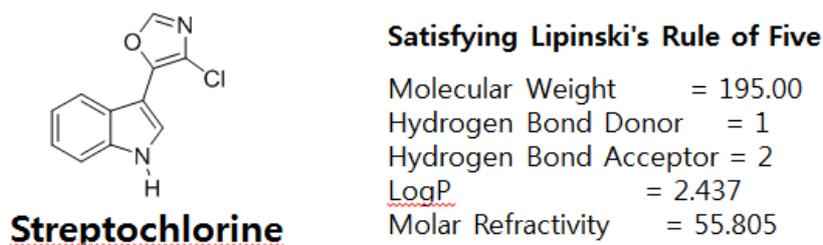


Figure1. Streptochlorin 의 구조와 Lipinski 법칙

아직 생명공학적 가치 평가가 완전히 이루어지지 않았지만 streptochlorin 의 기본적인 항생 활성 이외에 NF- κ B 의 억제에 의한 전이성 암세포의 혈관생성 억제, 반응성 산소가 관여하는 미토콘드리아 신호전달 체계에 의한 암세포 세포자살의 유도 등의 효과를 갖고 있음이 선행연구를 통해 밝혀졌다. 또한 최근 연구에서는 말벌유충이 조합예방법(combination prophylaxis)과 유사한 방법으로 streptochlorin 을 포함한 9 개의 항생물질 조합을 통해 외부의 감염으로부터 자신을 보호한다는 것이 밝혀지기도 하였다. 따라서 streptochlorin 의 질병치료제 또는 특정 단백질 저해제로서의 이용 가능성에 대한 전방위적인 연구를 위해서는 streptochlorin 의 인돌(indole) 또는 옥사졸(oxazole) 고리를 중심으로 화학구조적 변형이 가해진 합성유도체를 효율적으로 확보할 수 있는 화학합성법의 개발이 필수적이다. 또한 향후 이들의 특정 질병모델 또는 특정 단백질에 대한 활성을 정량적으로 측정함으로써 구조-활성간의 상관관계를 명확히 규명할 수 있을 것으로 기대하고 있다.

1. 유도체 합성 전략

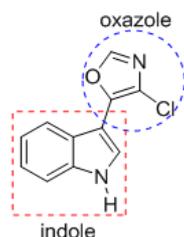


Figure 2. Streptochlorin 유도체의 합성전략

Streptochlorin 의 구조-활성간의 상관관계를 규명하기 위해서는 구조의 중심을 이루는 인돌(indole)과 옥사졸(oxazole) 두 개의 헤테로고리를 중심으로 다양한 화학적 변형이 이뤄져야 한다 (Fig. 2).

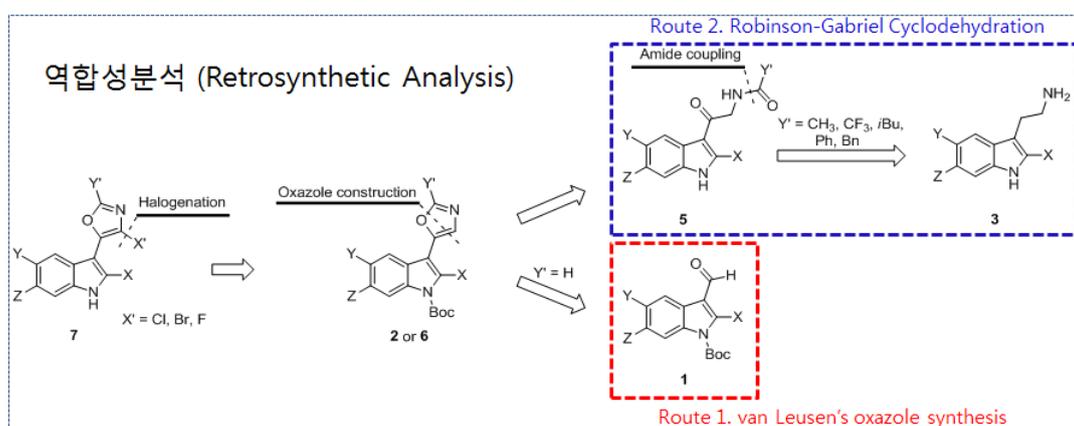


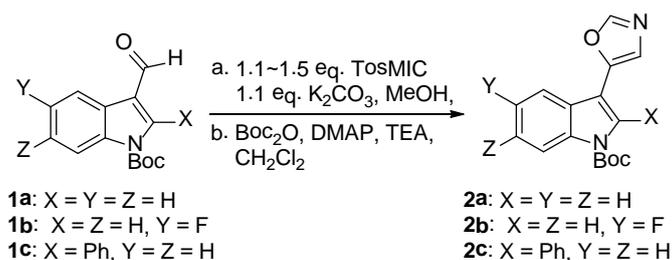
Figure 3. Streptochlorin 의 역합성분석

화합물합성 설계의 필수 단계인 역합성분석(retrosynthetic analysis)에서 옥사졸고리에 치환기 Y"을 도입하거나 인돌고리 2 번 탄소 위치에 치환기 X 를 도입하기 위해서는 각기 다른 두 가지의 합성루트를 사용해야 한다는 것이 밝혀졌다(Fig. 3). 유기화학적 관점에서 streptochlorin 은 시중에서 구매가 가능한 출발물질인 tryptamine 을 이용하여 EDC 중합반응, 로빈슨-가브리엘 고리화반응 (Robinson-Gabriel cyclization), 염소화 반응 (chlorination) 등을 주요 반응으로하는 6 단계의 일련의 화학반응을 통해 합성이 가능하다 (Route2, Fig. 3). 또한 염기를 촉매로 aldehyde 와 tosylmethyisocyanide(TOSMIC)를 중합하여 옥사졸고리를 만드는 van Leusen 옥사졸 합성법을 사용해서도 합성이 가능하다(Route 1, Fig. 3). 위에서 언급한 두 가지 합성 전략은 출발물질의 조합에 따라 인돌(indole) 4,5,6,7 번 위치와 옥사졸(oxazole) 고리에 할로젠(halogen), 알리파틱(aliphatic), 방향족(aromatic), 기타 기능기(functional group)

등을 포함한 다양한 치환기가 도입된 streptochlorin 유도체를 효과적으로 제조할 수 있어 옥사졸고리의 구조 변형이 약효에 미치는 영향을 규명할 수 있다(Fig. 3). 따라서 빠른 시간 내에 streptochlorin 과 관련된 다양한 화학종을 확보하기 위해 위 두 가지 합성루트를 필요한 상황에 맞게 교차적으로 사용하여 유도체를 합성하였다.

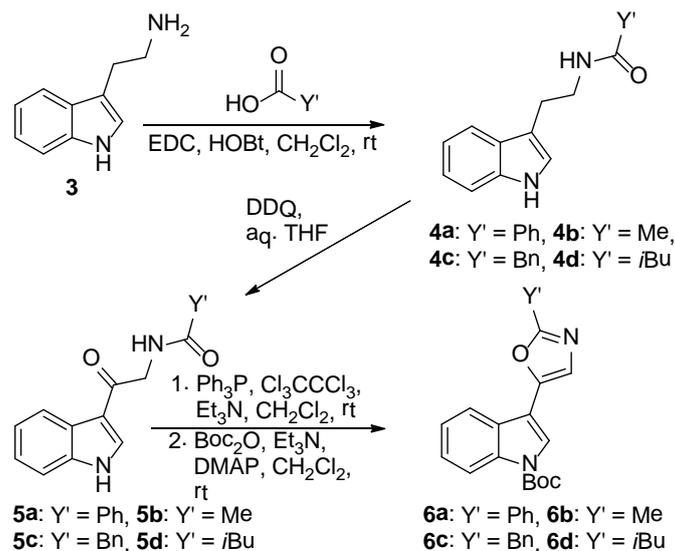
2. 연구결과

앞서 제시된 역합성 분석을 기초로 합성전략을 수립하여 streptochlorin 을 합성하였다. Indole-3-carboxaldehyde 로부터 1 단계의 화학반응을 통해 얻을 수 있는 출발물질 **1a** 은 메탄올 용매와 1.1 eq. K_2CO_3 조건에서 tosylmethylisocyanide(TosMIC)과 반응하여 옥사졸고리를 형성하는 ‘van Leusen’s 옥사졸 합성법’과 Boc (tert-butyloxy carbonyl) 보호기를 도입하여 **2a** 로 변환되었다 (Scheme 1). 같은 합성경로를 통해 인돌(indole)고리 5 번 탄소에 불소가 도입된 **2b** 와 2 번 탄소에 페닐기가 도입된 **2c** 등 2 종의 유도체를 합성하였다 (Scheme1).



Scheme 1. van Leusen 옥사졸 합성법을 이용한 streptochlorin 유도체 합성

Streptochlorin 유도체 종류를 다양화하기 위해 이번에는 ‘Robinson-Gabriel 고리화 반응’ 을 이용하여 옥사졸고리의 2 번 위치에 다양한 치환기를 도입하였다. 이를 위한 첫 번째 단계로서 tryptamine **3** 은 EDC(1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide), HOBt(N-Hydroxybenzotriazole)의 도움을 받아 벤조산과 아마이드 결합을 형성하여 화합물 **4a** 를 합성할 수 있다 (Scheme 2).



Scheme 2. Robinson–Gabriel 고리화반응을 이용한 streptochlorin 유도체 합성

화합물 **4a** 은 DDQ(2,3-dichloro-5,6-dicyano-1,4-benzoquinone)을 통한 위치선택적 산화반응에 의해 카르보닐기가 도입된 화합물 **5a** 가 되며, 이는 다시 생성물의 인돌 N-1 위치의 질소원자가 할로젠화 반응에서 반응에 참여하는 것을 방지하기 위해 Boc 보호기가 도입되어 **6a** 로 전환된다. 옥사졸 2 번 탄소에 페닐기가 도입된 **6a** 의 합성법과 같은 단계를 거쳐 메틸, 벤질, 이소부틸기가 도입된 화합물 **6b**, **6c**, **6d** 를 얻었다 (Scheme 2).

합성의 마지막 단계에서 경로 1(route 1)과 경로 2(route 2)를 통해 합성된 중간체 **2** 와 **6** 을 NCS (*N*-chlorosuccinimide)를 이용한 염소화 반응을 시도하여 옥사졸 4 번 탄소에 염소가 도입된 최종물질을 도출하였는데 이때 원하는 streptochlorin 유도체뿐 아니라 인들의 2 번 위치가 동시에 염소로 치환된 유도체를 반응 부산물로 얻을 수 있었다. 유사한 방법으로 옥사졸 4 번 탄소에 염소(chloro) 대신 브롬(bromo), 또는 불소(fluoro)기 등의 다른 할로젠족 원소가 도입된 streptochlorin 유도체를 합성하여 옥사졸 4 번 탄소의 치환기에 따른 생리활성의 변화를 분석할 수 있게 되었다(Fig. 4). 특히 인들 2 번 탄소에 수소가 아닌 다른 치환기가 도입되면 분자의 입체배좌(conformation)가 상당한 수준으로 변화하게 되는데 이들 dichloro 유도체들은 분자의 입체배좌가 약효에 끼치는 영향을 정량적으로 규명하는데 중요한 단서를 제공할 수 있다(Fig. 5)). 이렇게 개발된 streptochlorin 합성법을 이용하여 총 25 개의 streptochlorin 유도체를 도출하였으며 이들을 이용한 구조-활성 관계연구를 진행하였다.

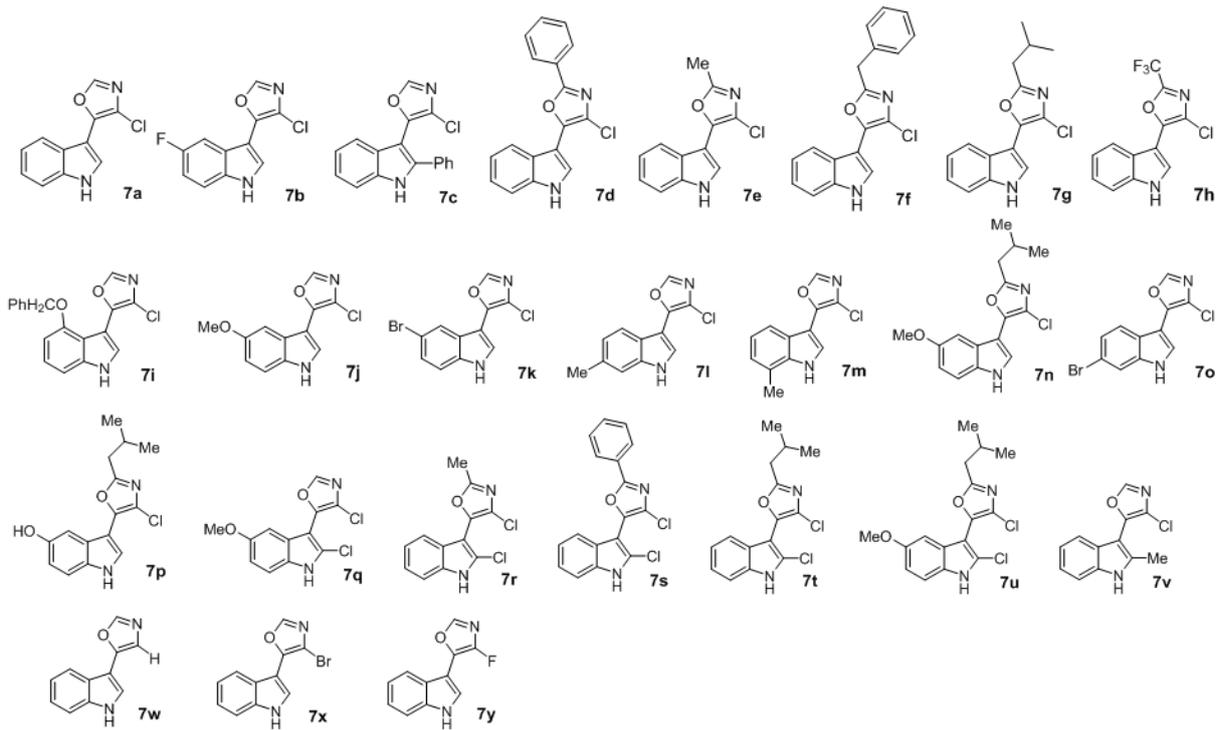


Figure 4. 인돌 2 번 위치의 치환기에 따른 입체배좌의 변화

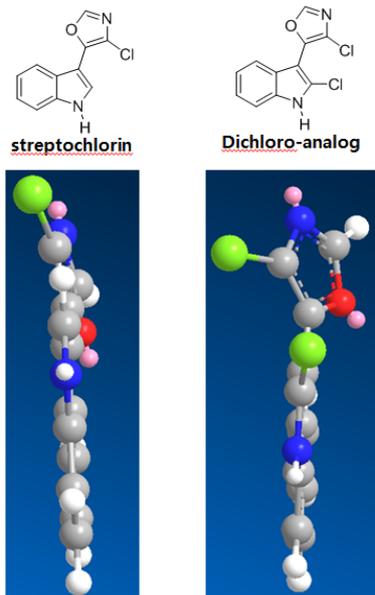


Figure 5. 인돌 2 번 위치의 치환기에 따른 입체배좌의 변화

- MM2 에너지 최적화프로그램 사용

Streptochlorin 와 그 유도체를 기반으로 수행된 기초적 구조-활성관계 연구는 크게 다음 세 가지 방향으로 진행되었다(Fig. 6).

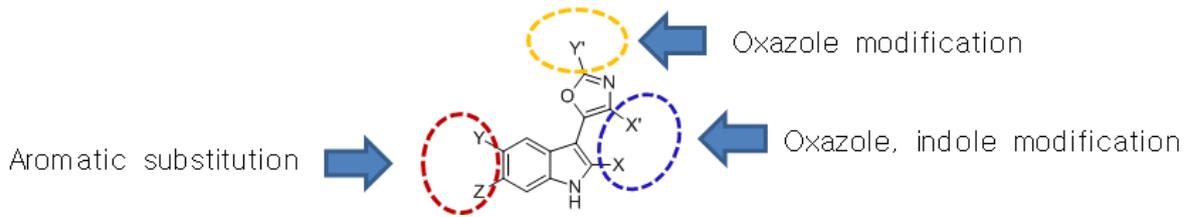
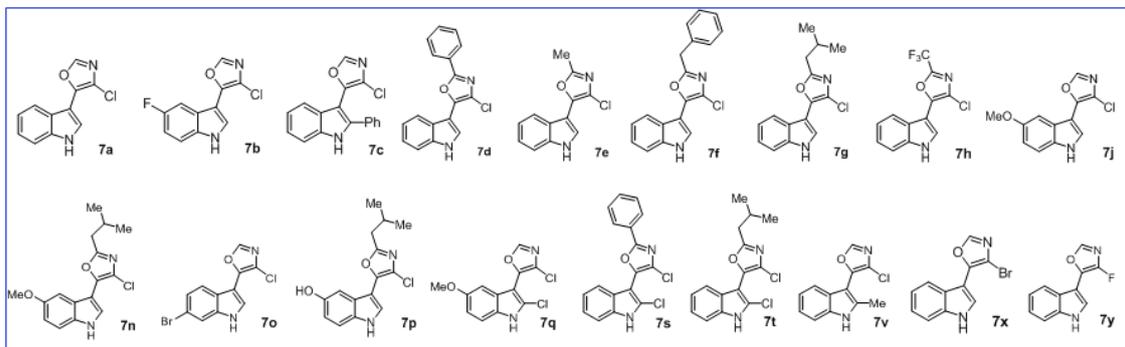


Figure 6. 구조-활성 관계연구 전략

첫째 van Leusen 옥사졸 합성법을 사용하여 인돌고리의 Y, Z 위치에 치환기를 도입; 둘째 Robinson-Gabriel Oxazole 합성법을 이용하여 옥사졸 Y"위치에 치환기 도입; 마지막으로 인돌과 옥사졸 X, X"위치에 다양한 치환기를 도입하였다 (Fig. 6).

이렇게 얻어진 streptochlorin 유도체들의 6 종의 NCI 암세포주에 대한 항암활성이 측정되었다. 이 결과 streptochlorin 인돌 고리에 각각 C5 hydroxyl group, C2 chloro, phenyl 등의 치환기와 옥사졸고리 C2'에 phenyl 기가 도입되었을 때 항암활성이 눈에 띄게 개선됨을 볼 수 있었다 (화합물 7c, 7p, 7s). 특히 인돌고리 2 번 탄소에 phenyl 기가 도입되었을 때 streptochlorin 에 비해 7 배 이상 항암활성이 개선된다는 사실이 밝혀져 앞으로 streptochlorin 구조-활성관계연구는 이를 중심으로 진행되어야 할 것으로 예상된다(Fig. 7)).



단위: ug/mL

compound Cell line	7a	7b	7c	7d	7e	7f	7g	7h	7j	7n	7o	7p	7q	7s	7t	7v	7x	7y
ACHN	>30	16.2	3.9	>30	>30	7.7	14.0	29.0	>30	>30	6.7	9.6	14.4	4.7	10.7	>30	>30	8.9
HCT15	>30	12.9	3.1	>30	>30	6.8	13.5	13.7	17.7	14.6	6.9	3.3	8.3	3.8	10.7	>30	13.6	13.5
MM231	>30	>30	4.8	>30	>30	10.0	15.5	>30	>30	>30	27.9	5.2	>30	8.4	11.1	>30	>30	22.0
NCI-H23	21.1	17.7	3.2	>30	>30	10.0	10.5	6.2	29.3	>30	9.4	4.7	13.7	3.7	11.5	>30	15.3	15.8
NUGC-3	18.3	12.3	3.3	>30	>30	10.1	10.3	4.0	>30	18.8	7.4	5.9	8.0	3.0	9.2	>30	14.0	14.2
PC-3	>30	17.0	4.3	>30	>30	10.0	10.2	22.0	18.9	>30	12.1	8.5	14.7	4.2	11.2	>30	18.3	16.3

Figure 7. 합성된 대표적 streptochlorin 유도체와 항암활성

3. 실험방법 및 데이터

All reactions were carried out under nitrogen unless otherwise indicated. Anhydrous methylene chloride (CH_2Cl_2), diethyl ether, and tetrahydrofuran (THF) were directly used from commercial source. Triethylamine was used without further purification. All work-up, wash, and chromatographic solvents were distilled. Sodium sulfate (Na_2SO_4) was anhydrous.

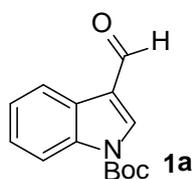
Thin layer chromatography (TLC) was used to monitor the progress of reactions by co-spotting with the starting materials. UV lamp (254 nm) was used to monitor the reaction. *p*-Anisaldehyde (1350 mL absolute ethanol, 50 mL concentrated H_2SO_4 , 37 mL *p*-anisaldehyde) was utilized as a common TLC visualizing solution.

Flash chromatographic purifications were performed using silica gel (230–400 mesh). ^1H NMR, ^{13}C NMR, and ^{19}F NMR data were recorded on 500 MHz NMR in chloroform- d_1 , acetone- d_6 , methanol- d_4 as a solvent and are described in parts per million (ppm) from the residual chloroform (7.24 ppm and 77.23 ppm), acetone (2.09 ppm, 205.87 ppm), and methanol (3.34 ppm, 49.86 ppm).

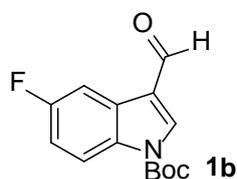
Peak multiplicates in ^1H NMR spectra are abbreviated as s (singlet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet), dd (doublet of doublet), q (quartet), and dt (doublet of triplet).

Procedure 1. General procedure for the synthesis of 3-formylindoles (**1a–1c**)

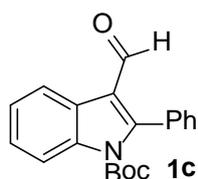
To a solution of indole-3-carboxaldehyde, triethylamine (1.3 equiv.), and 10 mol% DMAP in CH_2Cl_2 was added Boc_2O (1.2 equiv.). The reaction was stirred at room temperature until the starting material was completely consumed. The reaction was diluted with CH_2Cl_2 , worked up with water. The organic layer was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash chromatography (EA/nHx = 1:5 for **1a**, **1b**; EA/nHx = 1:9 for **1c**) to give compounds **1a–1c**.



Following **procedure 1** (1.5 equiv. triethylamine, 1.1 equiv. Boc_2O , and reaction time: 30 min), compound **1a** (5.1 g, 20.6 mmol) was obtained quantitatively from indole-3-carboxaldehyde (3.0 g, 20.7 mmol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.08 (s, 1H), 8.27 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 8.22 (s, 1H), 8.13 (d, $J = 8.38$ Hz, 1H), 7.40 (t, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.35 (t, $J = 6.3$ Hz, 1H), 1.69 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 186.0, 149.1, 136.7, 136.2, 126.3, 124.8, 122.4, 121.8, 115.4, 85.9, 28.3; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{15}\text{NO}_3$ 145.1, found m/z 246.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Following **procedure 1** (reaction time: 20 min), compound **1b** (406.9 mg, 1.55 mmol) was obtained in 98% yield from 5-fluoro-indole-3-carboxaldehyde (257.1 mg, 1.58 mmol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 10.00 (s, 1H), 8.19 (s, 1H), 8.04 (dd, $J = 9.0, 4.4$ Hz, 1H), 7.89 (dd, $J = 8.8, 2.7$ Hz, 1H), 7.08 (dt, $J = 9.1, 2.7$ Hz, 1H), 1.68 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 185.6, 160.4 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 241.4$ Hz, C-F), 148.6, 137.5, 132.4, 127.2 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 10.7$ Hz, C=C), 121.3 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 4.2$ Hz, C-C), 116.4 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.3$ Hz, C-H), 114.1 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 25.6$ Hz, C-H), 108.0 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 24.7$ Hz, C-H); ^{19}F NMR (470 MHz, CDCl_3) δ -117.9; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{14}\text{H}_{14}\text{FNO}_3$ 263.1, found m/z 264.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Following **procedure 1** (reaction time: 25 min), compound **1c** (711.9 mg, 2.22 mmol) was obtained in 98% yield from 2-phenyl-indole-3-carboxaldehyde (502.3 mg, 2.27 mmol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 9.70 (s, 1H), 8.38 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H),

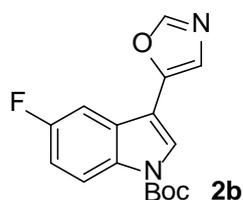
8.20 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.37–7.49 (m, 7H), 1.25 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 188.4, 150.1, 149.4, 136.5, 131.2, 130.3, 129.4, 128.3, 126.1, 125.7, 125.0, 122.1, 119.9, 115.0, 85.2, 27.6; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{19}\text{NO}_3$ 321.1, found m/z 322.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Procedure 2. General procedure for the synthesis of oxazoles **2a–2c**

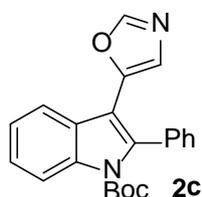
A solution of the compounds **1a–1c** and 1.1 equiv. TOSMIC in dry MeOH containing 1.1 equiv. anhydrous K_2CO_3 was refluxed until the 3-formylindole was consumed completely. The reaction was quenched with water and extracted with EtOAc. The extracts were washed with water until free from of alkali, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash chromatography to give compounds **2a–2c**.



Following **procedure 2** (eluent: EA/nHex = 1:9 to 1:1, reaction time: 7h), compound **2a** (400.9 mg, 2.18 mmol) was obtained in 11% yield from compound **1a** (5.1 g, 20.6 mmol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.20 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.92 (d, $J = 1.5$ Hz, 1H), 7.90 (s, 1H), 7.78 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.37–7.40 (m, 2H), 7.32 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 1.68 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 149.9, 149.5, 146.5, 135.7, 126.8, 125.4, 123.6, 123.1, 122.0, 120.2, 115.7, 109.4, 84.6, 28.3; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_3$ 284.1, found m/z 285.2 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Following **procedure 2** (eluent: EA/nHx = 1:6, reaction time: 2.5h), compound **2b** (48.7 mg, 0.24 mmol) was obtained in 16% yield from compound **1b** (388.9 g, 1.48 mmol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.12 (bs, 1H), 7.92 (s, 1H), 7.89 (s, 1H), 7.43 (d, $J = 8.8$ Hz, 1H), 7.31 (s, 1H), 7.09 (t, $J = 9.0$ Hz, 1H), 1.67 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 159.8 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 240.5$ Hz, C-F), 150.0, 149.2, 146.1, 132.1, 127.6 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 10.3$ Hz, C=C), 124.4, 121.9, 116.8 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 9.3$ Hz, C-H), 113.3 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 25.1$ Hz, C-H), 109.2 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 4.2$ Hz, C-C), 106.0 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 24.7$ Hz, C-H), 85.0, 28.3; ^{19}F NMR (470 MHz, CDCl_3) δ -119.2; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{16}\text{H}_{15}\text{FN}_2\text{O}_3$ 302.1, found m/z 302.7 $[\text{M}]^+$

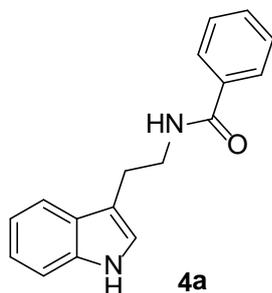


Following **procedure 2** (eluent: EA/nHx = 1:9, reaction time: 24h), compound **2c** (173.8 mg, 0.67 mmol) was obtained in 30% yield from compound **1c** (709.5 mg, 2.21 mmol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.32 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H), 8.02 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.85 (s, 1H), 7.46–7.85 (m, 3H), 7.41 (t, $J = 8.2$ Hz, 1H), 7.33–7.36 (m, 3H), 6.37 (s, 1H), 1.22 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 149.85, 149.78, 147.0, 136.6, 136.5, 134.0, 129.8, 128.7, 128.6, 126.6, 125.4, 123.7, 123.1, 120.7, 115.6, 109.5, 84.0, 27.6; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ 360.1, found m/z 361.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$

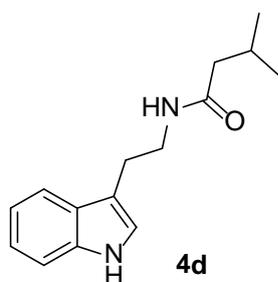
Procedure 3. General procedure for the synthesis of compounds **4a–4d**

Tryptamine **3** was dissolved in CH_2Cl_2 , and then 1.1 equiv. acid, 1.1 equiv. EDC, and 1.1 equiv. HOBT were added sequentially at room temperature. The reaction was stirred at room temperature until the starting material was completely consumed. The reaction was diluted with CH_2Cl_2 (EA for **4a**), worked up with water. The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The

crude residue was purified by flash chromatography (EA/nHx = 1:6 for **4a**; EA/nHx = 1:9 for **4d**) to give compounds **4a** and **4d**.



Following **procedure 3** (reaction time: 21h), compound **4a** (685.6 mg, 2.59 mmol) was obtained in 83% yield from tryptamine (500.5 mg, 3.12 mmol); ^1H NMR (500 MHz, $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$) δ 9.18 (bs, 1H), 7.59 (d, $J = 7.4$ Hz, 2H), 7.55 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.38 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.28–7.31 (m, 3H), 7.11 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 7.02 (d, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.97 (s, 1H), 6.97 (bs, 1H), 3.68 (dd, $J = 12.6, 6.5$ Hz, 1H), 3.01 (t, $J = 6.8$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz $\text{CDCl}_3+\text{CD}_3\text{OD}$) δ 168.4, 136.7, 134.4, 131.5, 128.5, 127.3, 126.9, 122.6, 122.4, 121.9, 119.2, 118.5, 112.3, 111.5, 111.46, 40.6, 25.2; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}$ 264.1, found m/z 265.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Following **procedure 3** (reaction time: 21h), compound **4d** (653.3 mg, 2.67 mmol) was obtained in 86% yield from tryptamine (500.8 mg, 3.12 mmol); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.43 (bs, 1H), 7.59 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 8.1$ Hz, 1H), 7.19 (t, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.10 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H), 6.99 (s, 1H), 5.58 (bs, 1H), 3.59 (dd, $J = 12.7, 6.6$ Hz, 2H), 2.95 (t, $J = 6.7$ Hz, 1H), 2.04–2.10 (m, 1H), 1.95 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 0.90 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 172.8, 136.6, 127.5, 122.3, 122.27, 119.5, 118.8, 113.0, 111.5, 46.4, 39.8, 26.3, 25.6, 22.6; MS

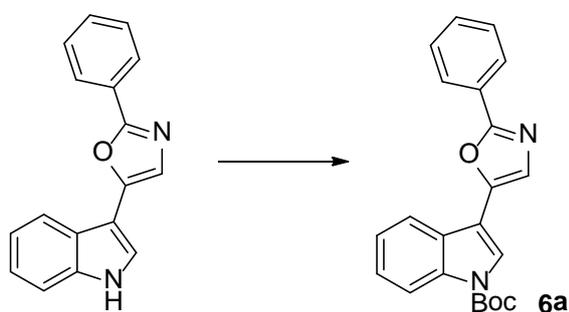
(APCI) calcd for C₁₅H₂₀N₂O 244.2, found m/z 244.9 [M+]⁺

Procedure 4. General procedure for the synthesis of compounds **5a–5d**

To a solution of compounds **4a–4d** in aqueous THF at 0 ° C was added DDQ. The reaction turned to a deep red solution. After the starting material was consumed completely, the reaction was diluted with EA, worked up with sat. NaHCO₃ solution to remove residual DDQ and its by-products. The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash chromatography to give compounds **5a–5d**.

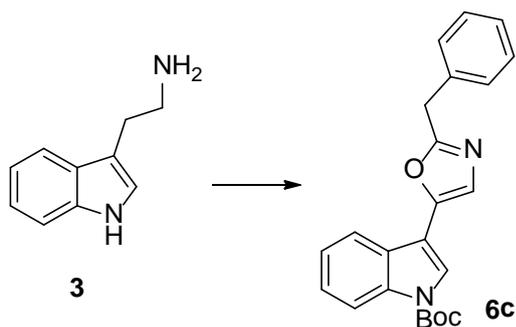
Procedure 5. General procedure for the synthesis of compounds **6a–6d**

Ph₃P (2 equiv. for compound **6d**; 3 equiv. for compounds **6a**, **6b**, and **6c**) and hexachloroethane (2 equiv. for compound **6d**; 3 equiv. for compounds **6a**, **6b**, and **6c**) were dissolved in CH₂Cl₂ at room temperature. After the addition of triethylamine (6 equiv. for compound **6d**; 4 equiv. for compounds **6a**, **6b**, and **6c**), a solution of compounds **5a–5d** in CH₂Cl₂ was added to the mixture. After the reaction, the mixture was diluted with CH₂Cl₂ and worked up with water. The organic layer was dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash chromatography and the resulting indole compounds **8** were protected with Boc protection group using **procedure 1**.

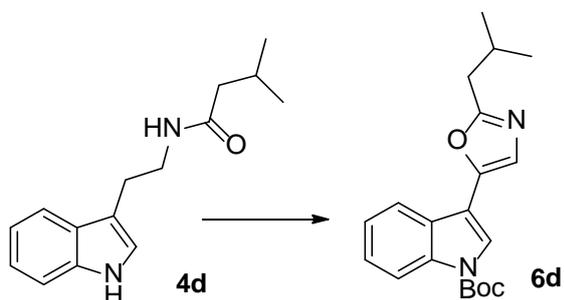


Compound **6a** (613.7 mg, 1.70 mmol) was obtained in 87% yield from the corresponding indole compound (510.5 mg, 1.96 mmol) via **procedure 1** (column chromatography: nHx/EA = 10:1); ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 8.22 (d, *J* = 7.3

Hz, 1H), 8.12 (d, $J = 7.6$ Hz, 2H), 7.97 (s, 1H), 7.87 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.42–7.51 (m, 4H), 7.39 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 7.36 (d, $J = 7.0$ Hz, 1H), 1.71 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 160.7, 146.4, 130.5, 129.1, 127.6, 126.9, 126.5, 125.4, 124.0, 123.7, 122.9, 120.4, 115.8, 109.7, 84.7, 28.4; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ 360.1, found m/z 360.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Compound **6c** (42.6 mg, 0.11 mmol) was obtained in 9% overall yield from tryptamine **3** (202.1 mg, 1.26 mmol) via **procedures 1, 3, 4, and 5** (column chromatography: $\text{nHx}/\text{EA}/\text{TEA} = 12:1:0.5$); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.19 (d, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.84 (s, 1H), 7.73 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.25–7.39 (m, 8H), 4.20 (s, 2H), 1.68 (s, 9H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 162.0, 149.6, 146.4, 135.7, 129.0, 128.9, 127.3, 126.9, 125.3, 123.5, 122.64, 122.60, 120.3, 115.7, 109.7, 84.6, 34.9, 28.3; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_3$ 374.2, found m/z 375.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

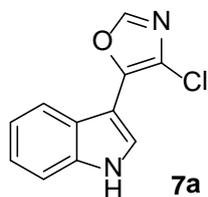


Compound **6d** (30.4 mg, 0.09 mmol) was obtained in 13% yield over 3 steps from compound **4d** (653.3 mg, 2.67 mmol) via **procedures 4, 5** (column chromatography: $\text{nHx}/\text{EA} = 3:1$); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.18 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H), 7.83 (s, 1H), 7.76 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.36 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.31 (d, $J = 7.1$ Hz, 1H),

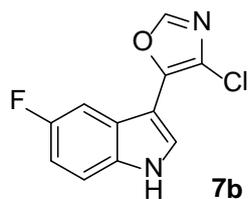
2.71 (d, $J = 7.1$ Hz, 2H), 2.21–2.25 (m, 1H), 1.67 (s, 9H), 1.02 (d, $J = 6.6$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 163.4, 149.6, 145.7, 135.7, 126.9, 125.2, 123.5, 122.34, 122.31, 120.3, 115.6, 109.9, 84.4, 37.3, 28.3, 27.8, 22.5; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{20}\text{H}_{24}\text{N}_2\text{O}_3$ 340.2, found m/z 341.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

Procedure 6. General procedure for the synthesis of compounds **7a–7g**

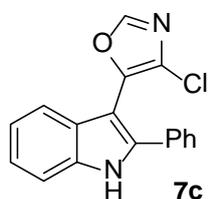
Fresh *N*-chlorosuccinimide (1.2 equiv.) was added to the appropriate compound (**2a–2c**, **6a–6d**) in THF/ CCl_4 at room temperature. The reaction was stirred at room temperature until TCL analysis indicated that the reaction was completed (normally 12h to 56h). After the reaction, the mixture was diluted with EA and worked up with water. The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash chromatography to give the corresponding compounds. *t*Butyl carbamate (Boc) was removed by treatment with TFA at room temperature.



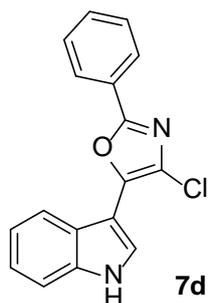
Compound **7a** (38.5 mg, 0.18 mmol) was obtained in 50% yield over 2 steps from compound **2a** (483.2 mg, 1.70 mmol) via **procedures 6** (column chromatography: nHex/EA = 6:1 to 3:1); ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 8.13 (s, 1H), 7.98 (d, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.80 (s, 1H), 7.44 (d, $J = 8.5$ Hz, 1H), 7.21 (d, $J = 7.6$ Hz, 1H), 7.14 (dd, $J = 7.8, 7.1$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD) δ 150.0, 145.3, 137.8, 125.9, 125.4, 123.9, 121.7, 121.5, 121.4, 112.9, 103.6; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_7\text{ClN}_2\text{O}$ 218.0, found m/z 218.8 $[\text{M}]^+$



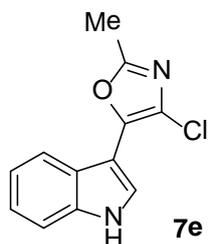
Compound **7b** (22.4 mg, 0.09 mmol) was obtained in 49% yield over 2 steps from compound **2b** (69.0 mg, 0.23 mmol) via **procedures 6** (column chromatography: nHx/EA = 9:1 to 3:1); ^1H NMR (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 10.98 (bs, 1H), 8.24 (s, 1H), 8.02 (d, $J = 2.7$ Hz, 1H), 7.69 (dd, $J = 10.0, 2.2$ Hz, 1H), 7.55 (dd, $J = 8.8, 4.6$ Hz, 1H), 7.06 (dt, $J = 9.2, 2.2$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 159.3 (d, $^1J_{\text{C-F}} = 234.0$ Hz, C-F), 149.6, 143.7, 133.9, 127.0, 125.8 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 10.7$ Hz, C=C), 121.9, 114.1 (d, $^3J_{\text{C-F}} = 10.3$ Hz, C-H), 111.9 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 26.5$ Hz, C-H), 105.9 (d, $^2J_{\text{C-F}} = 24.7$ Hz, C-H), 103.8 (d, $^4J_{\text{C-F}} = 4.7$ Hz, C-C); ^{19}F NMR (470 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ -124.4; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{11}\text{H}_6\text{ClFN}_2\text{O}$ 236.0, found m/z 236.8 $[\text{M}]^+$



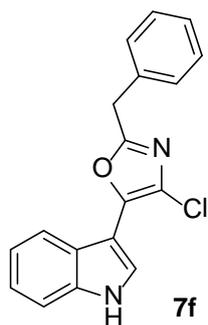
Compound **7c** (92.0 mg, 0.31 mmol) was obtained in 57% yield over 2 steps from compound **2c** (196.6 mg, 0.55 mmol) via **procedures 6** (column chromatography: nHx/EA = 9:1); ^1H NMR (500 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 11.14 (bs, 1H), 8.29 (s, 1H), 7.57–7.64 (m, 4H), 7.44 (t, $J = 7.5$ Hz, 2H), 7.38 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 7.28 (t, $J = 8.0$ Hz, 1H), 7.20 (t, $J = 7.5$ Hz, 1H); ^{13}C NMR (125 MHz, $(\text{CD}_3)_2\text{CO}$) δ 151.6, 142.8, 139.3, 137.2, 132.8, 129.7, 129.3, 129.0, 128.4, 127.2, 123.7, 121.6, 120.3, 112.6, 98.6; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}$ 294.1, found m/z 294.9 $[\text{M}]^+$



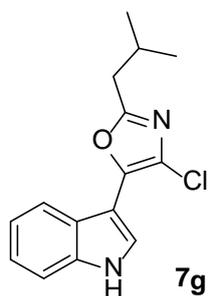
Compound **7d** (54.8 mg, 0.19 mmol) was obtained in 47% yield, over 2 steps from compound **6a** (613.7 mg, 1.70 mmol) via **procedures 6** (column chromatography: nHx/EA = 9:1 to 5:1); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.51 (bs, 1H), 8.19 (d, J = 7.3 Hz, 1H), 8.11 (d, J = 7.4 Hz, 2H), 7.85 (s, 1H), 7.45–7.51 (m, 4H), 7.28–7.33 (m, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 158.2, 143.0, 135.9, 130.7, 129.1, 127.1, 126.2, 124.7, 123.6, 123.5, 123.4, 121.5, 121.1, 111.7, 104.5; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ClN}_2\text{O}$ 294.1, found m/z 295.0 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Compound **7e** (89.3 mg, 0.38 mmol) was obtained in 79% yield over 2 steps from compound **6b** (144.7 mg, 0.49 mmol) via **procedures 6** (column chromatography: nHx/EA = 6:1 to 4:1); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.49 (bs, 1H), 8.04 (d, J = 7.8 Hz, 1H), 7.73 (d, J = 2.7 Hz, 1H), 7.42 (d, J = 8.0 Hz, 1H), 7.21–7.29 (m, 2H), 2.55 (s, 3H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 158.5, 142.6, 135.8, 124.7, 123.4, 122.9, 121.7, 121.2, 121.1, 111.6, 104.4, 14.5; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{12}\text{H}_9\text{ClN}_2\text{O}$ 232.0, found m/z 233.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Compound **7f** (9.4 mg, 0.03 mmol) was obtained in 66% yield over 2 steps from compound **6c** (42.6 mg, 0.11 mmol) via **procedures 6** (column chromatography: nHx/EA = 6:1); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.49 (bs, 1H), 7.93 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.33–7.72 (m, 5H), 7.25–7.28 (m, 2H), 7.19 (t, $J = 7.3$ Hz, 1H), 4.18 (s, 2H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 159.9, 143.1, 135.8, 135.2, 129.1, 129.0, 127.5, 124.6, 123.4, 123.1, 121.8, 121.2, 121.0, 111.6, 104.2, 35.2; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{18}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}$ 308.1, found m/z 309.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$



Compound **7g** (15.2 mg, 0.06 mmol) was obtained in 63% yield, over 2 steps from compound **6d** (30.4 mg, 0.09 mmol) via **procedures 6** (column chromatography: nHx/EA = 3:1); ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 8.79 (bs, 1H), 8.05 (d, $J = 7.9$ Hz, 1H), 7.74 (d, $J = 2.5$ Hz, 1H), 7.42 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.23–7.30 (m, 2H), 2.73 (d, $J = 7.3$ Hz, 2H), 2.40–2.27 (m, 1H), 1.05 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3) δ 161.4, 142.5, 135.9, 124.7, 123.3, 123.0, 121.5, 121.1, 121.0, 111.7, 104.3, 37.5, 27.8, 22.6; MS (APCI) calcd for $\text{C}_{15}\text{H}_{15}\text{ClN}_2\text{O}$ 274.1, found m/z 275.1 $[\text{M}+\text{H}]^+$

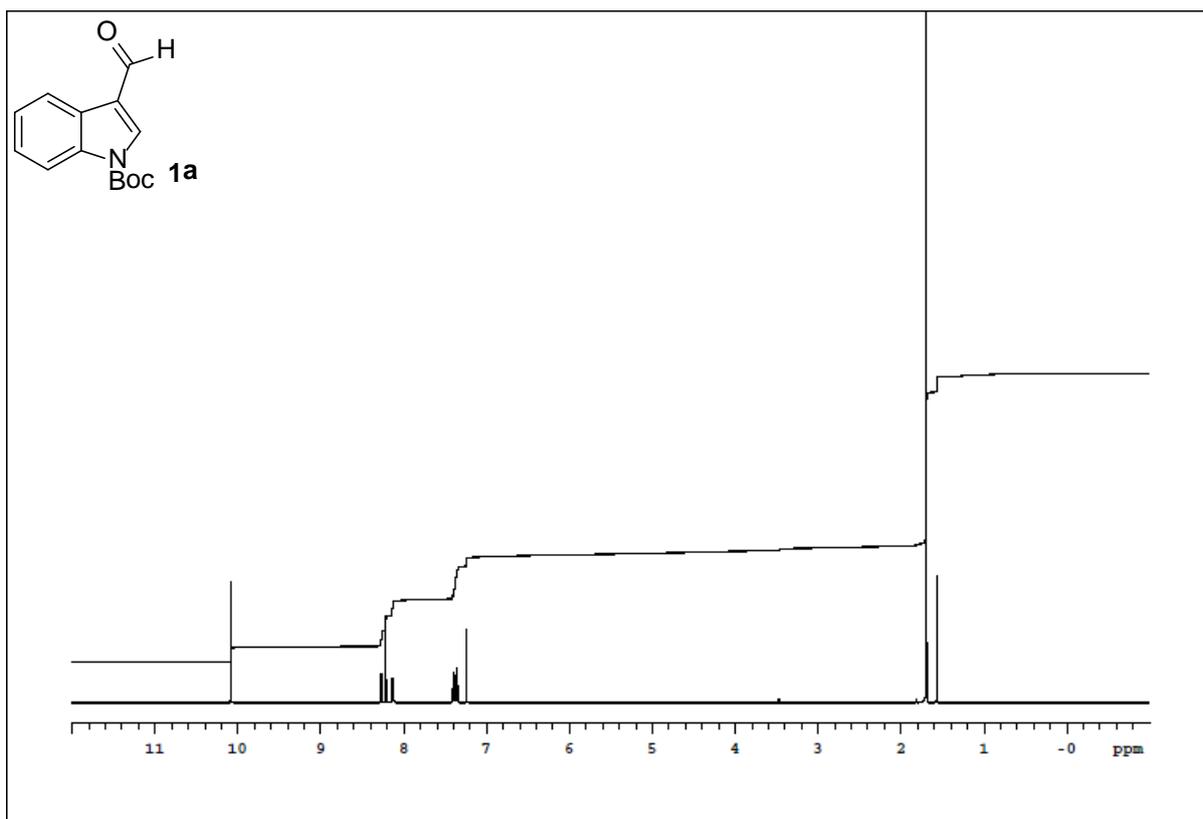


Figure 8. $^1\text{H NMR}$ spectrum of compound **1a**

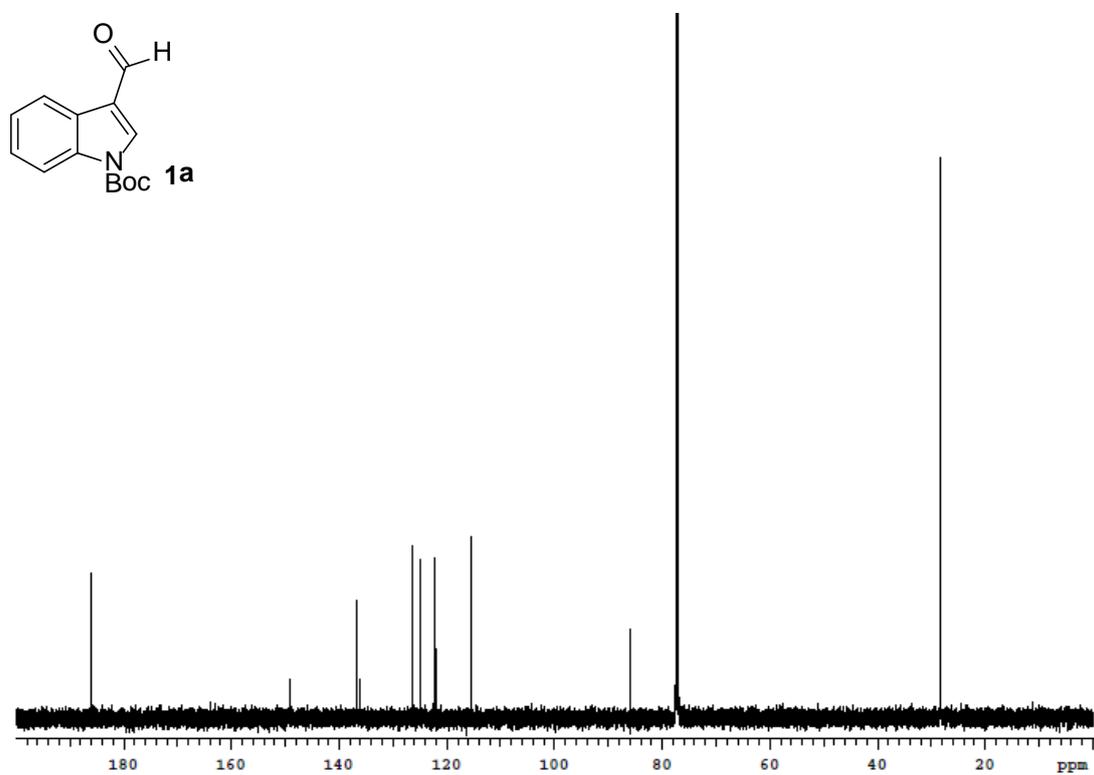


Figure 9. $^{13}\text{C NMR}$ spectrum of compound **1a**

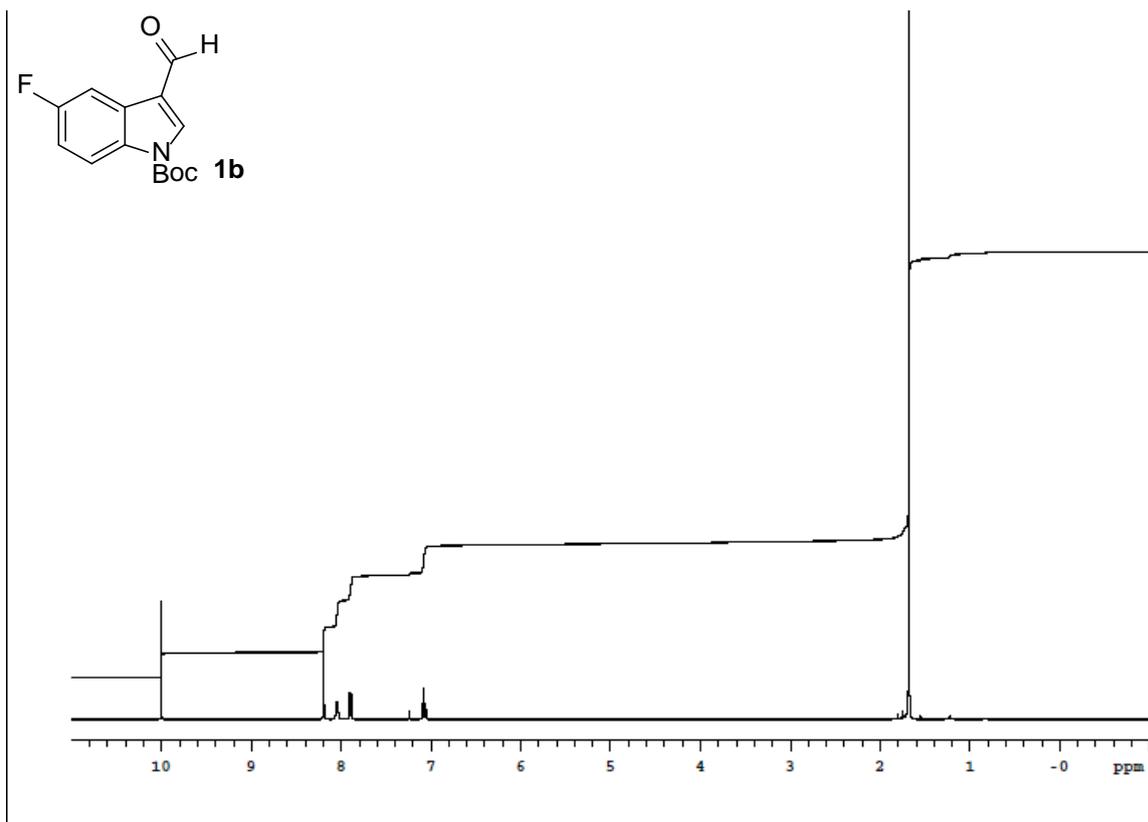


Figure 10. ¹H NMR spectrum of compound **1b**

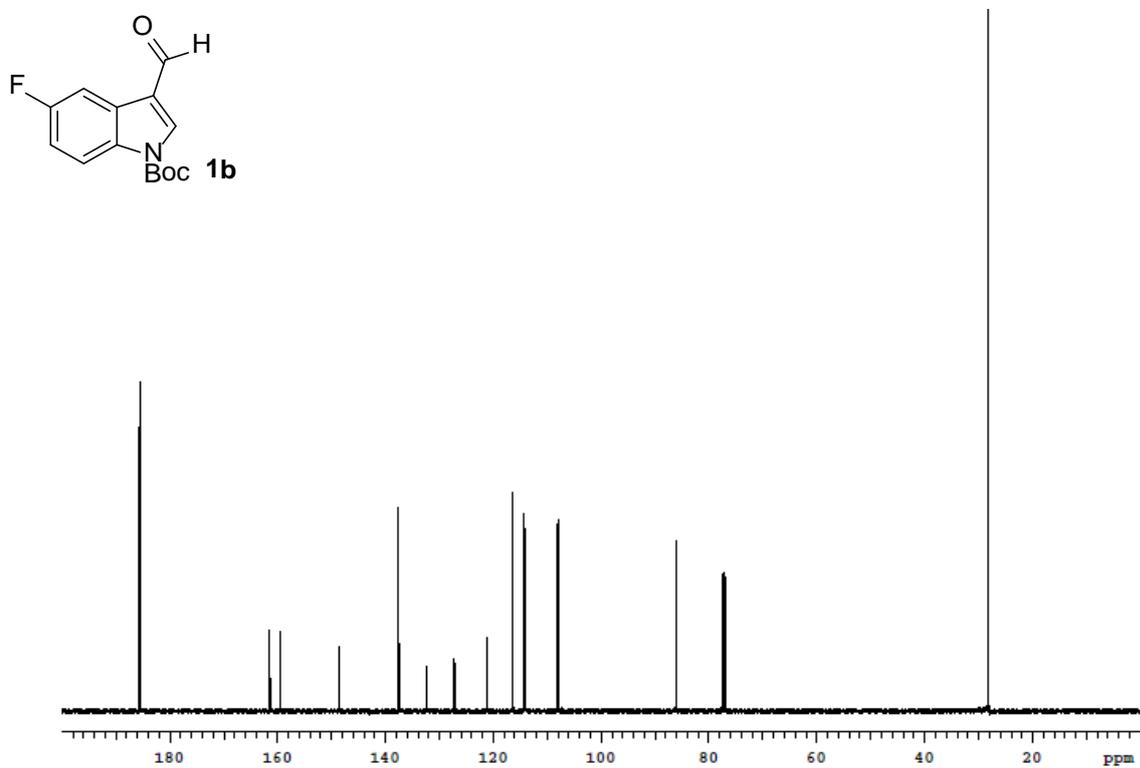


Figure 11. ¹³C NMR spectrum of compound **1b**

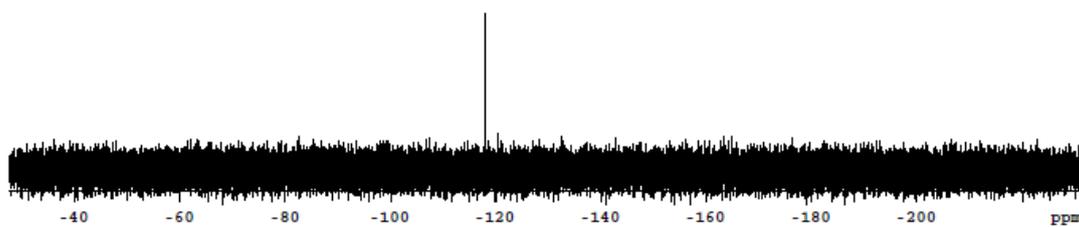
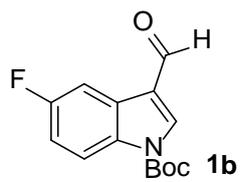


Figure 12. ^1H NMR spectrum of compound **1b**

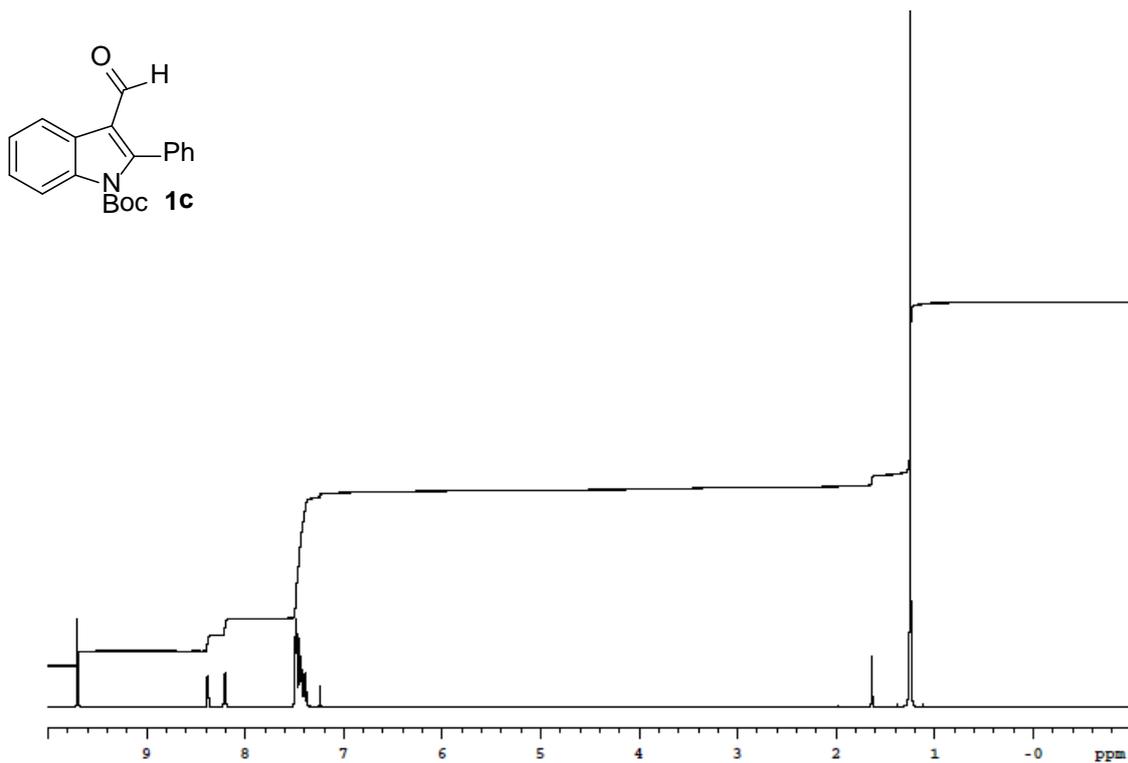


Figure 13. ¹H NMR spectrum of compound 1c

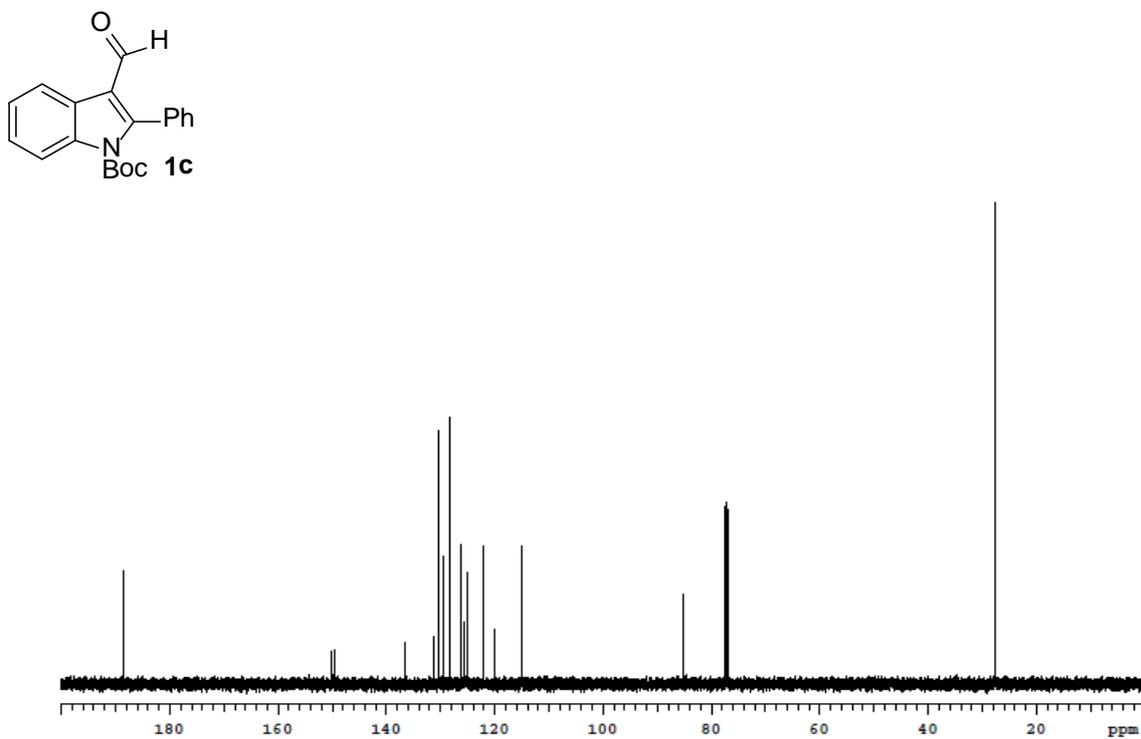


Figure 14. ¹³C NMR spectrum of compound 1c

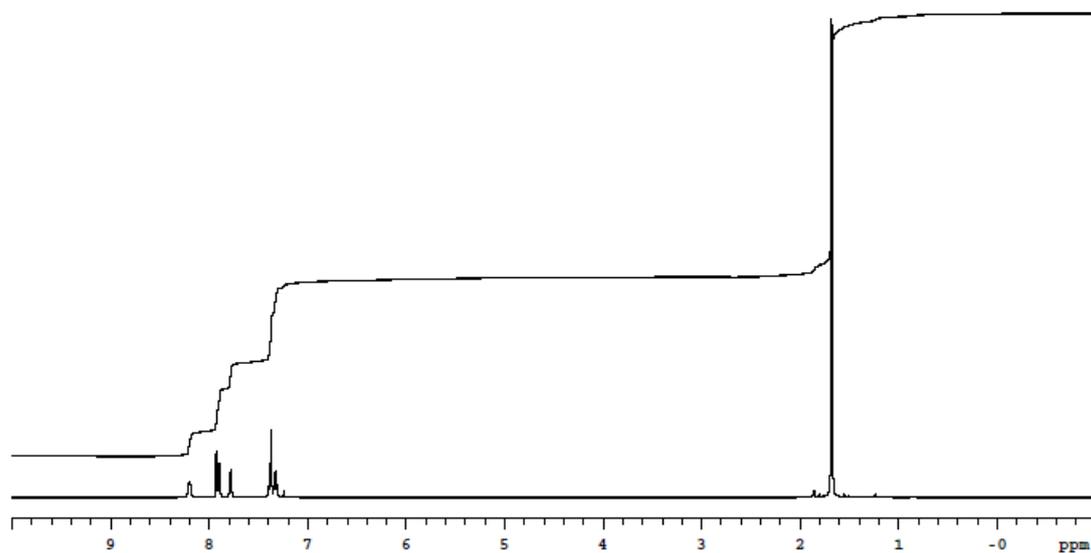
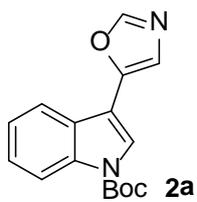


Figure 15. ¹H NMR spectrum of compound 2a

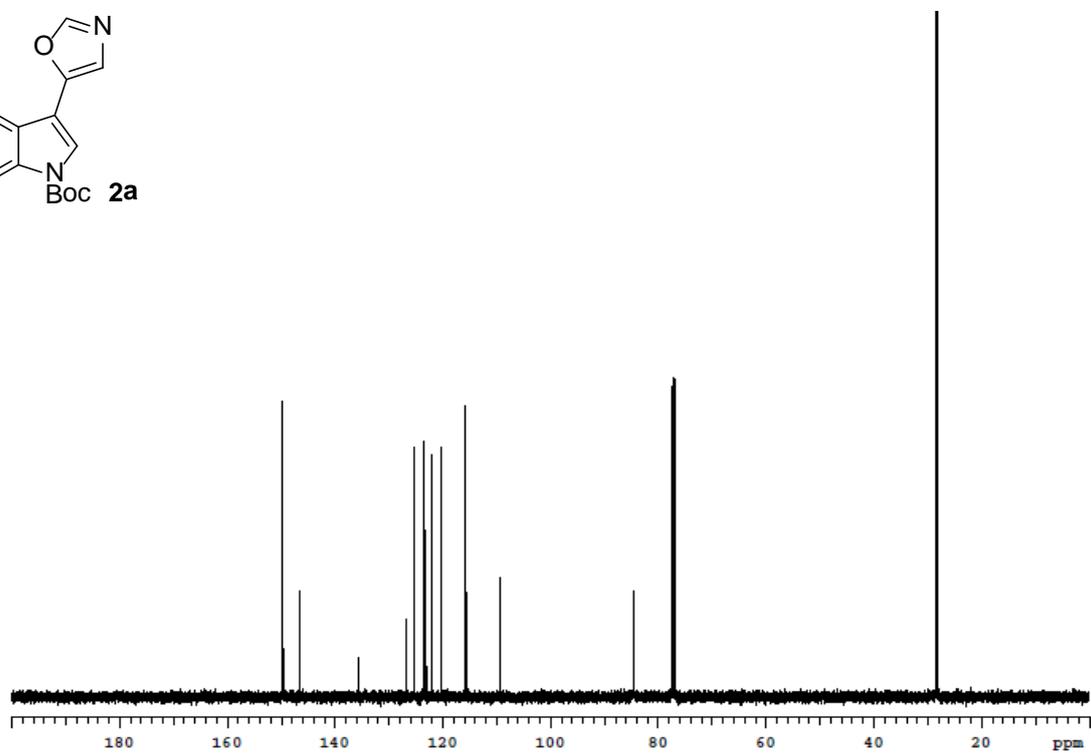


Figure 16. ¹³C NMR spectrum of compound 2a

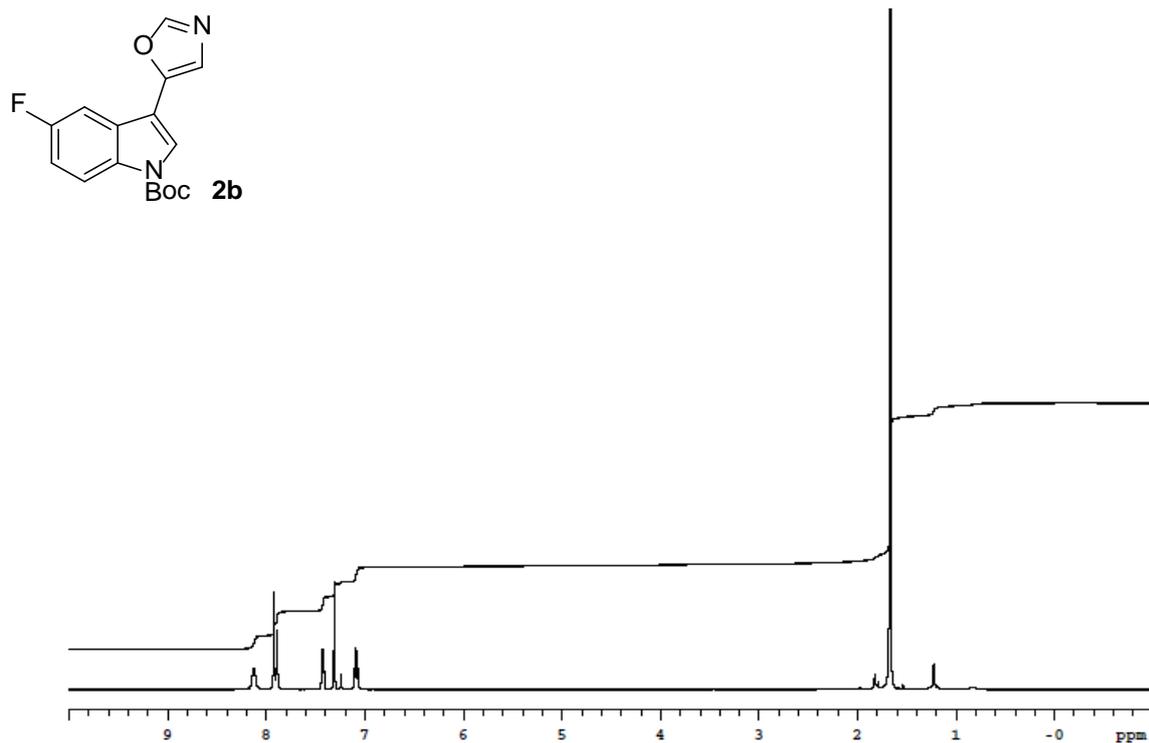


Figure 17. $^1\text{H NMR}$ spectrum of compound **2b**

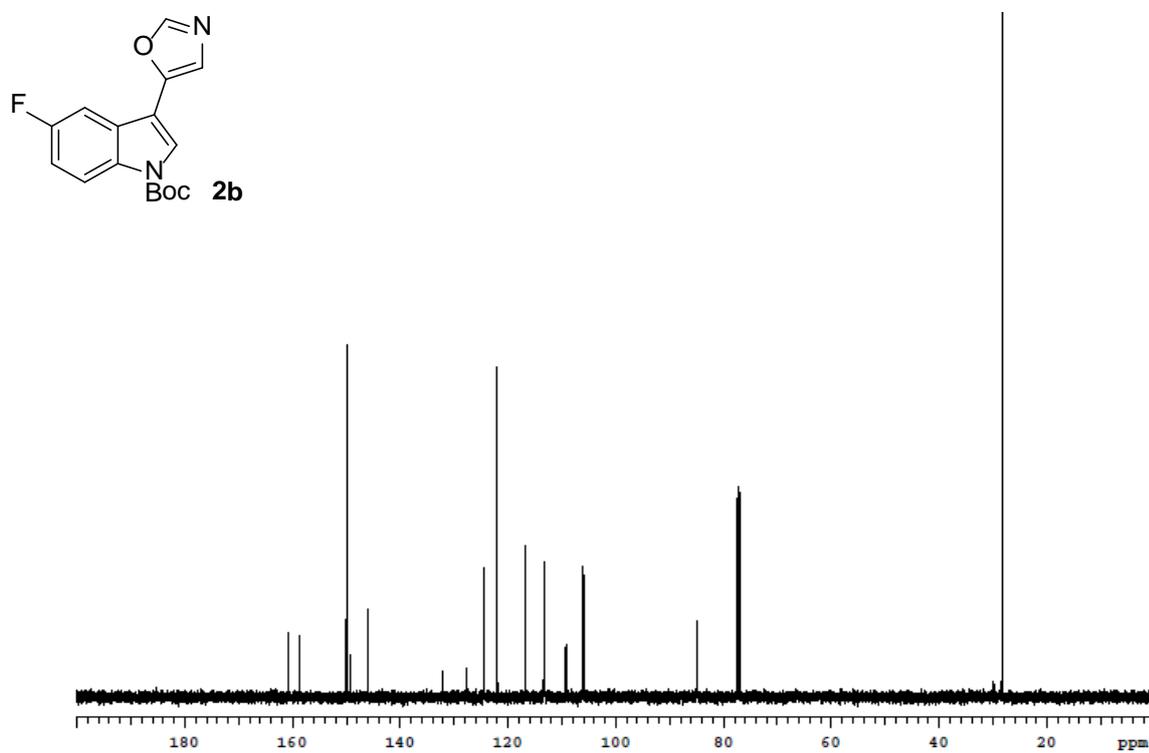


Figure 18. $^{13}\text{C NMR}$ spectrum of compound **2b**

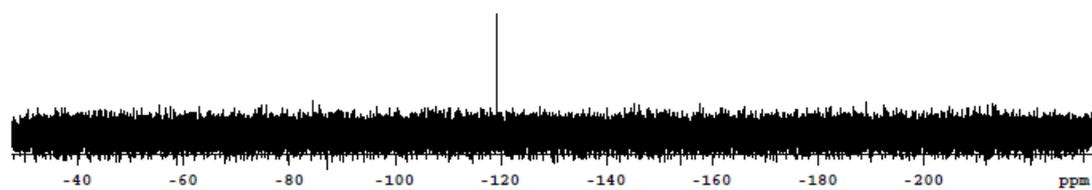
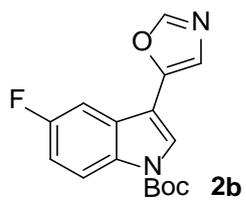


Figure 19. ^{19}F NMR spectrum of compound **2b**

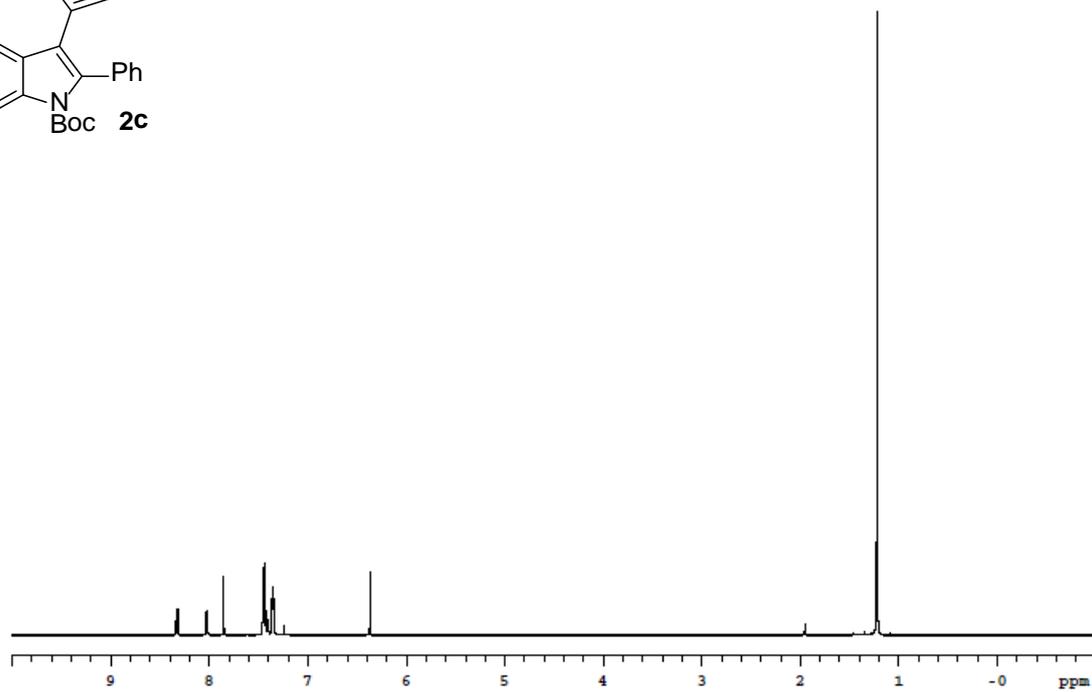
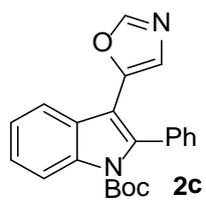


Figure 20. ¹H NMR spectrum of compound 2c

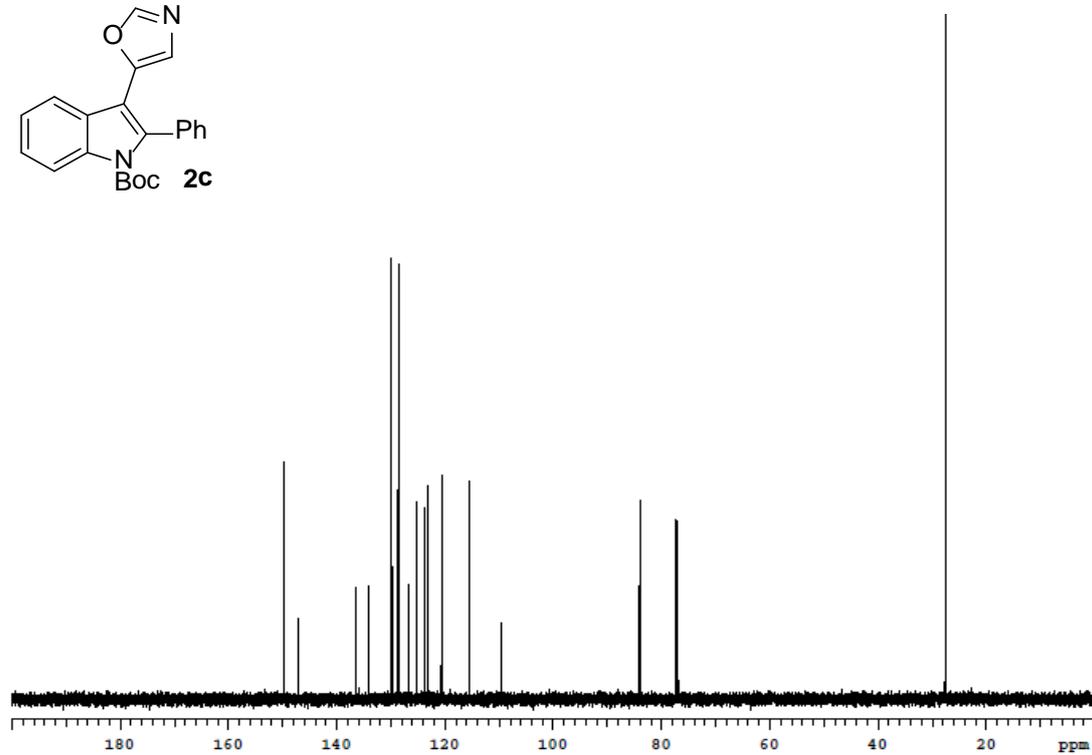
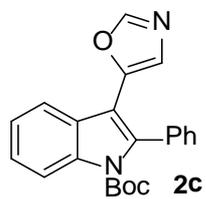


Figure 21. ¹³C NMR spectrum of compound 2c

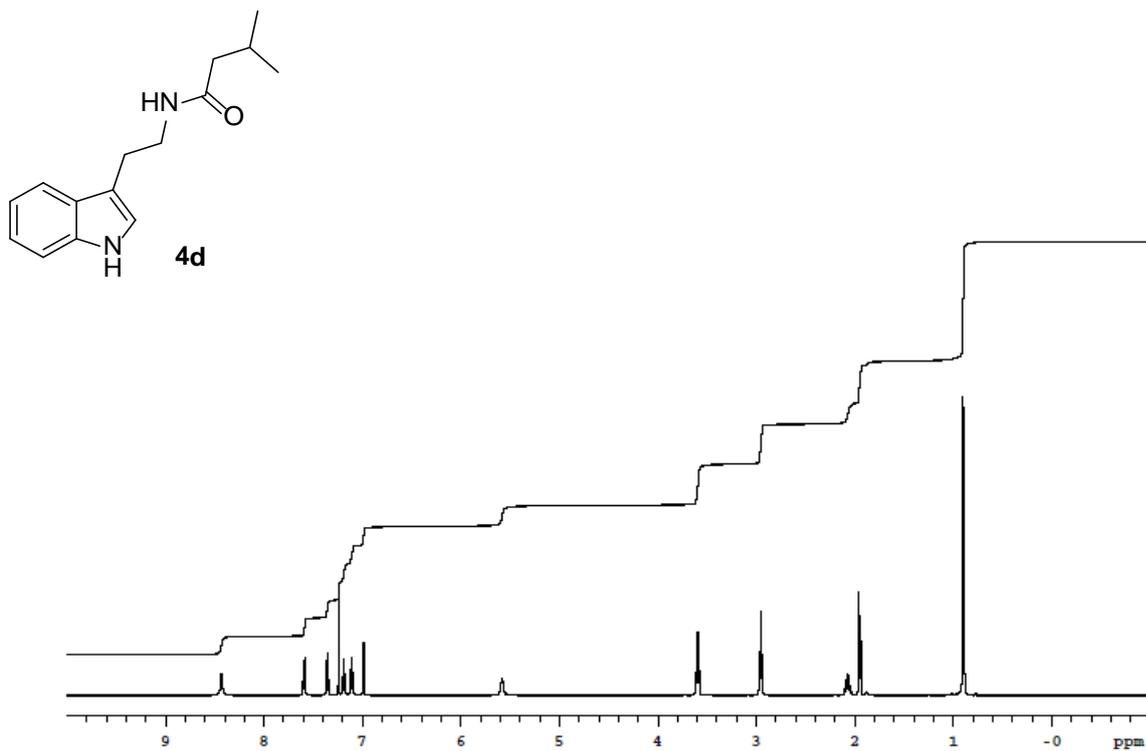


Figure 24. ^1H NMR spectrum of compound 4d

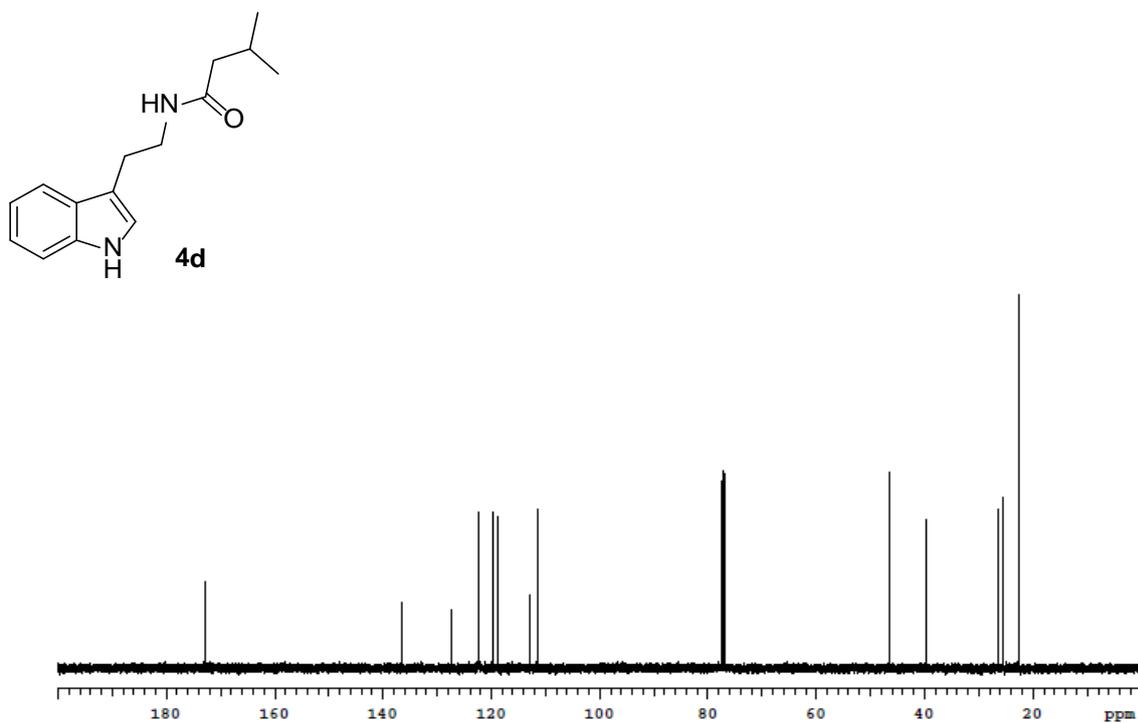


Figure 25. ^{13}C NMR spectrum of compound 4d

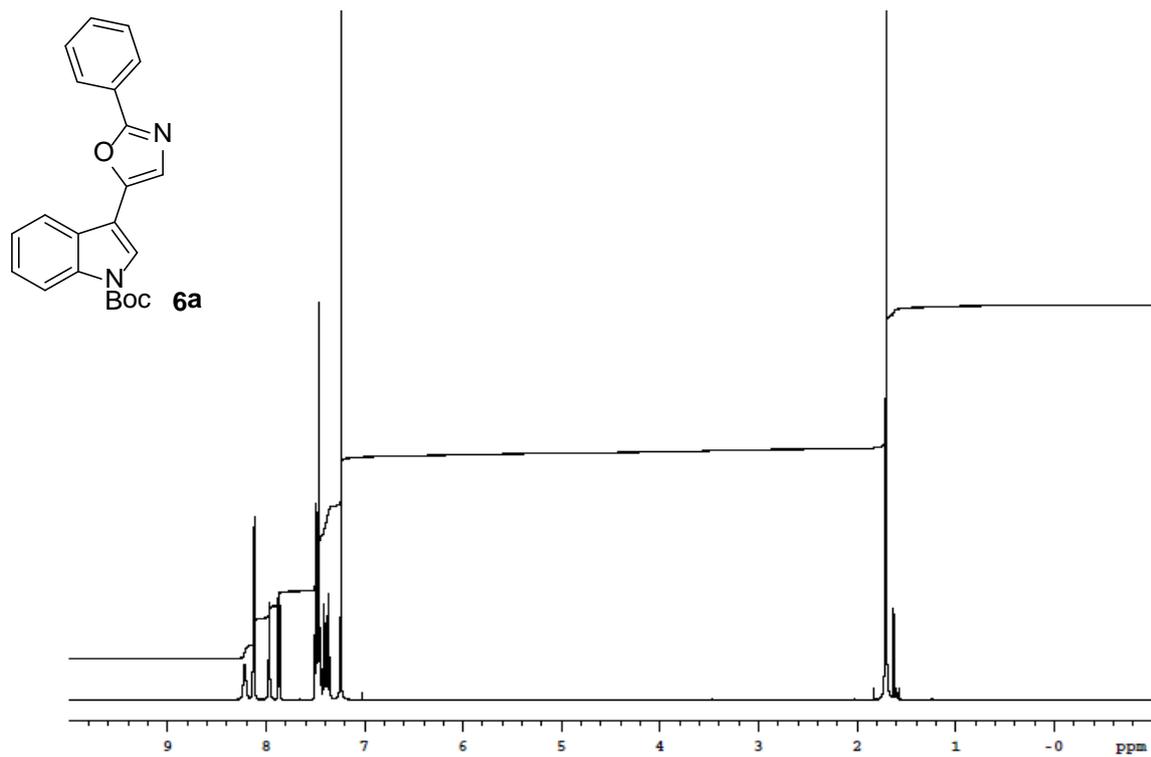


Figure 26. ¹H NMR spectrum of compound 6a

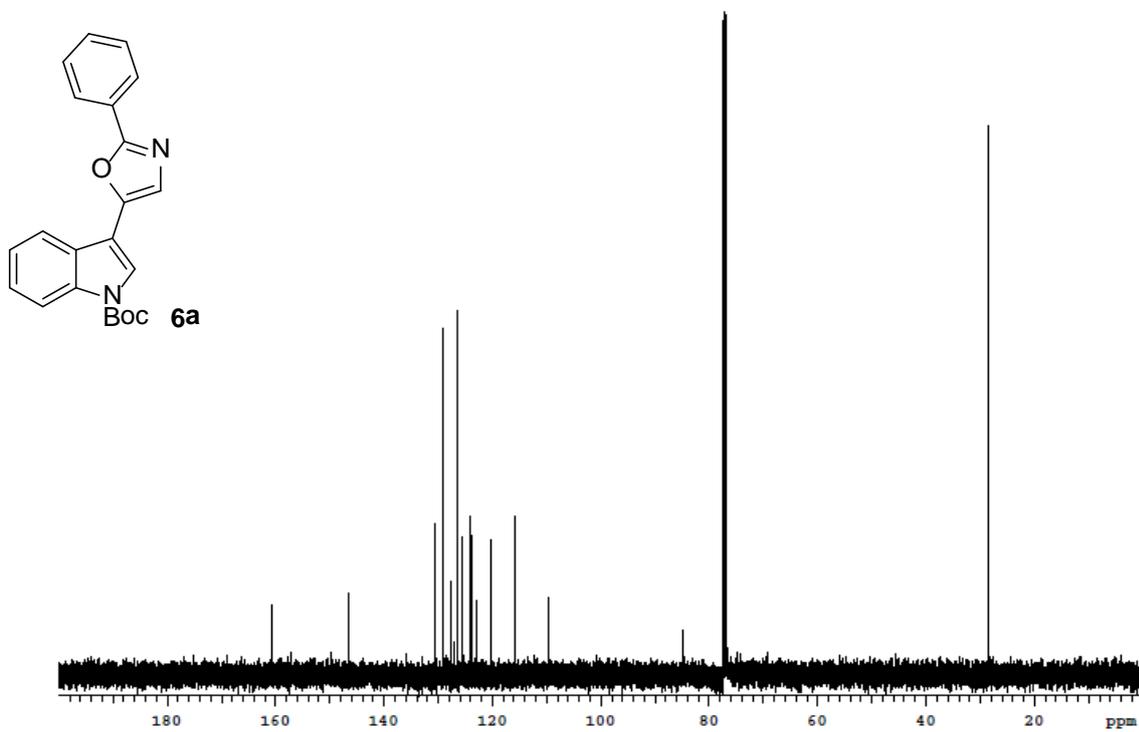


Figure 27. ¹³C NMR spectrum of compound 6a

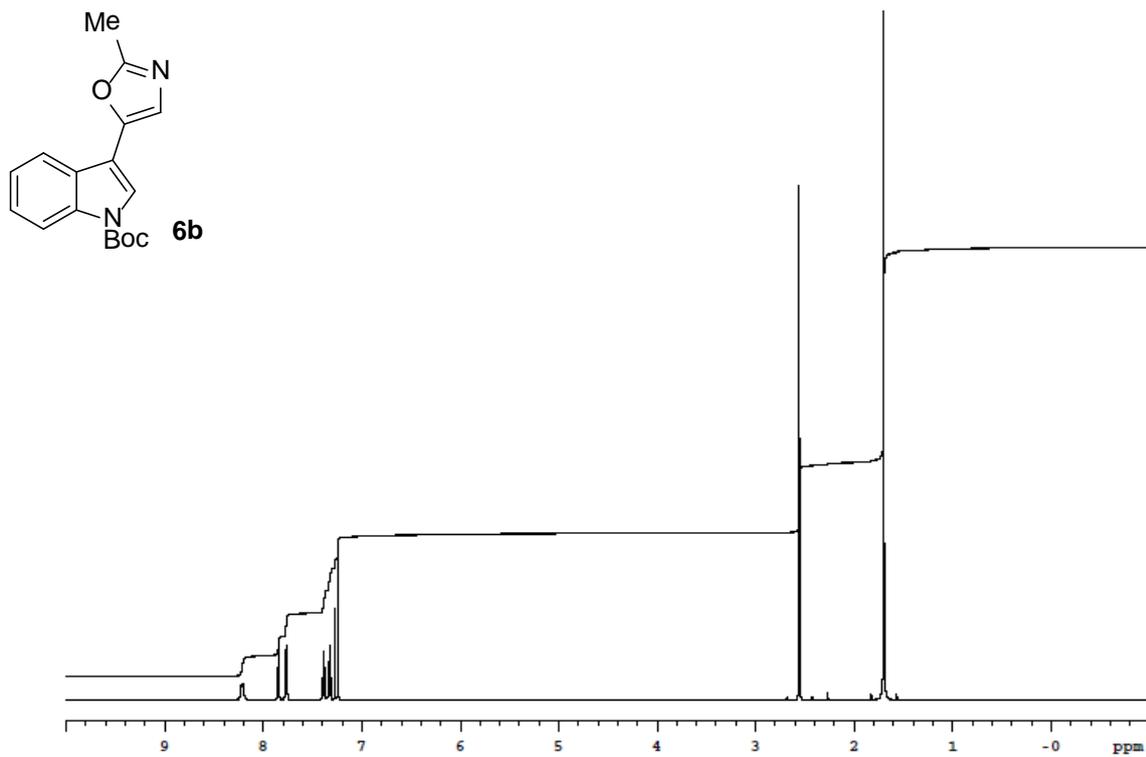


Figure 28. ¹H NMR spectrum of compound **6b**

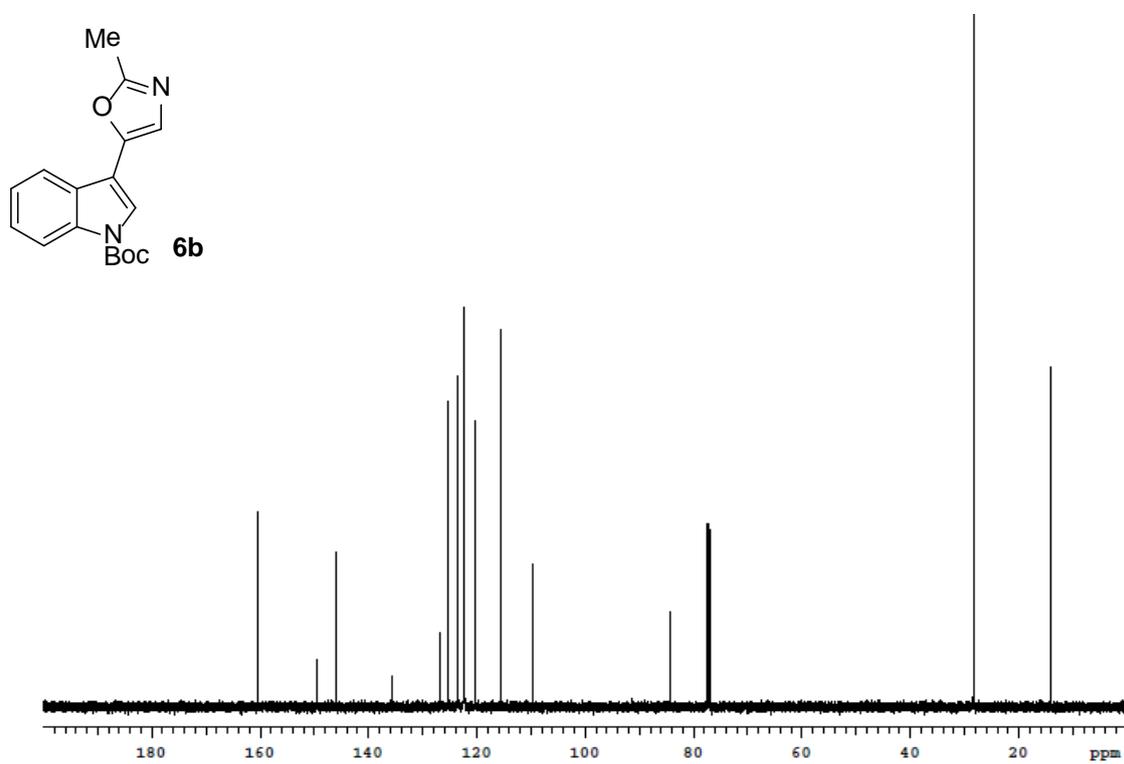


Figure 29. ¹³C NMR spectrum of compound **6b**

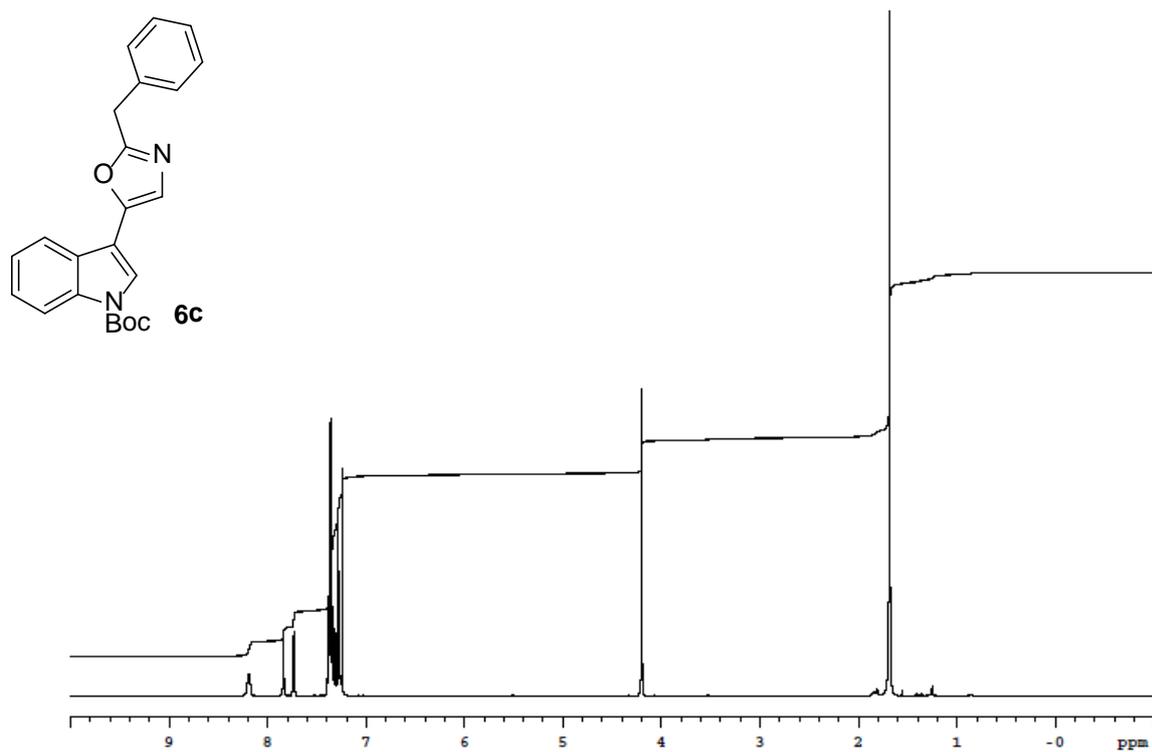


Figure 30. ¹H NMR spectrum of compound **6c**

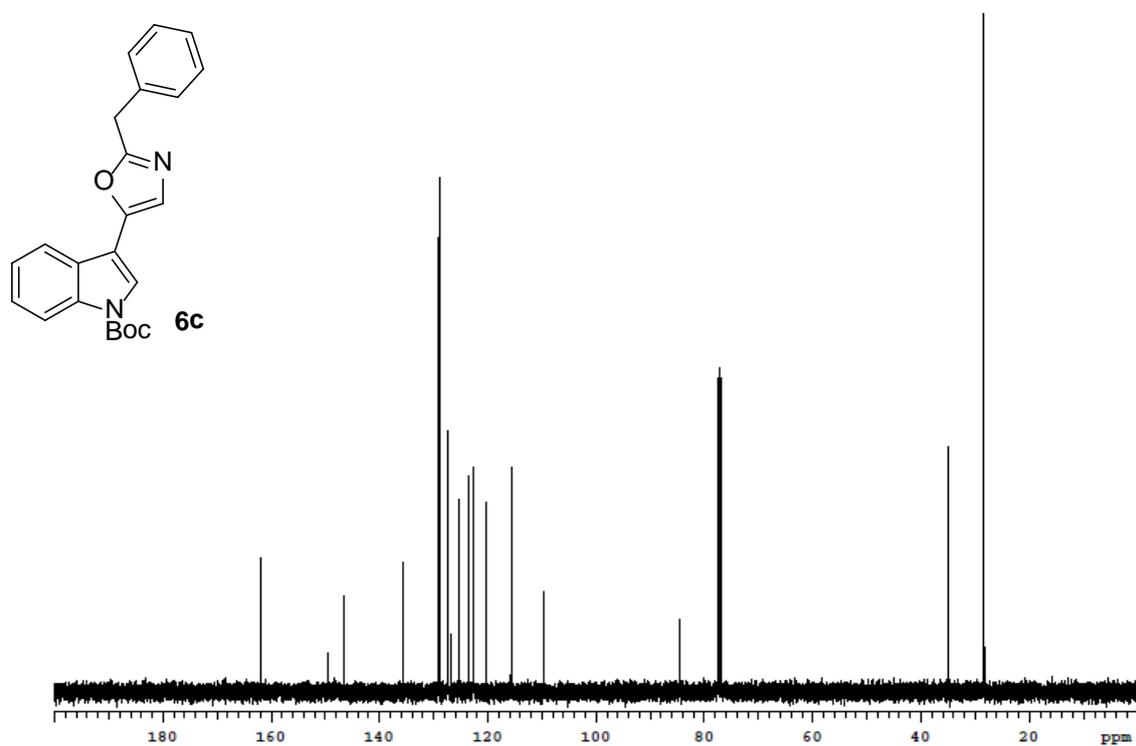


Figure 31. ¹³C NMR spectrum of compound **6c**

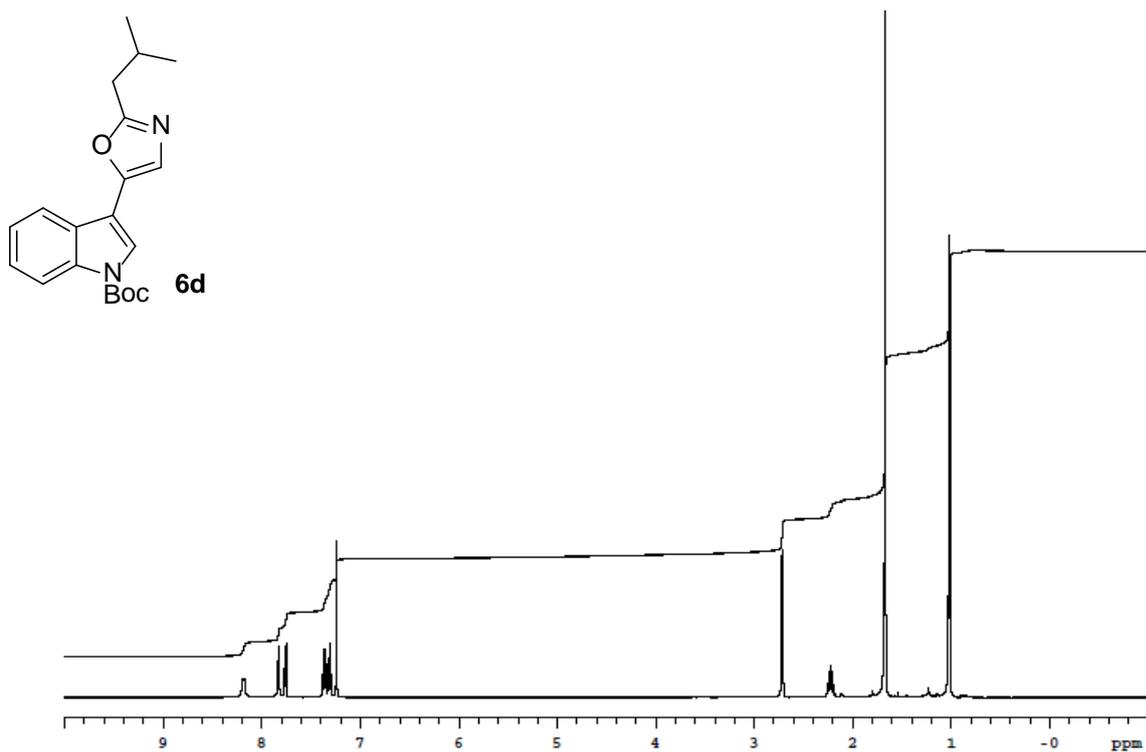


Figure 32. ¹H NMR spectrum of compound 6d

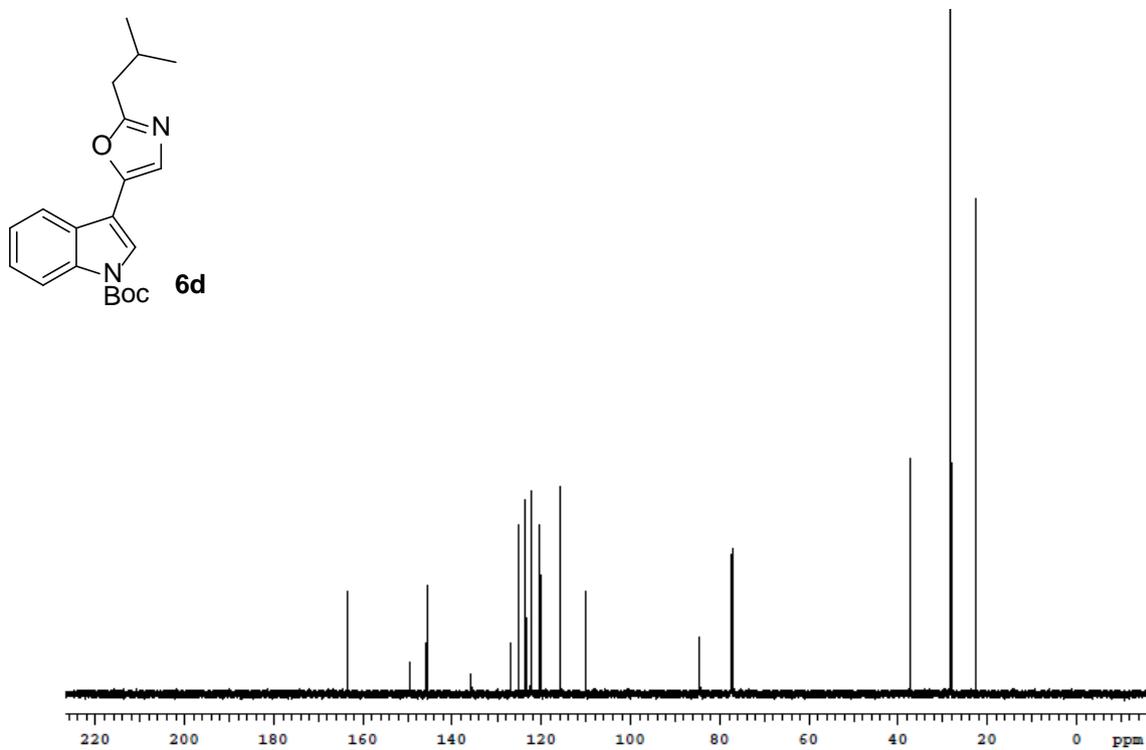


Figure 33. ¹³C NMR spectrum of compound 6d

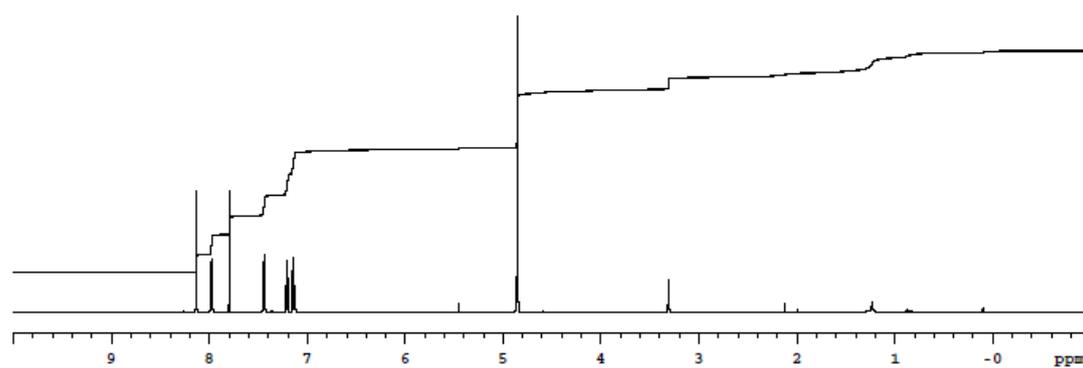
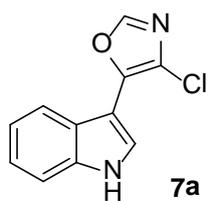


Figure 34. ^1H NMR spectrum of compound **7a**

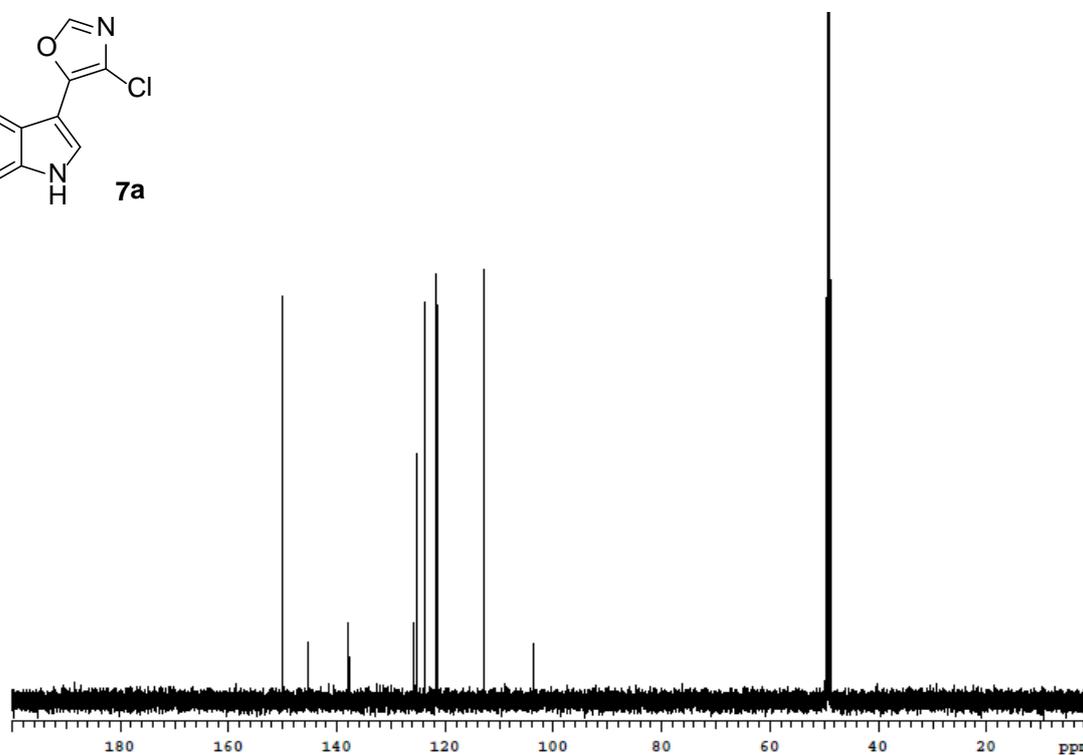
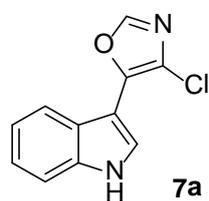


Figure 35. ^{13}C NMR spectrum of compound **7a**

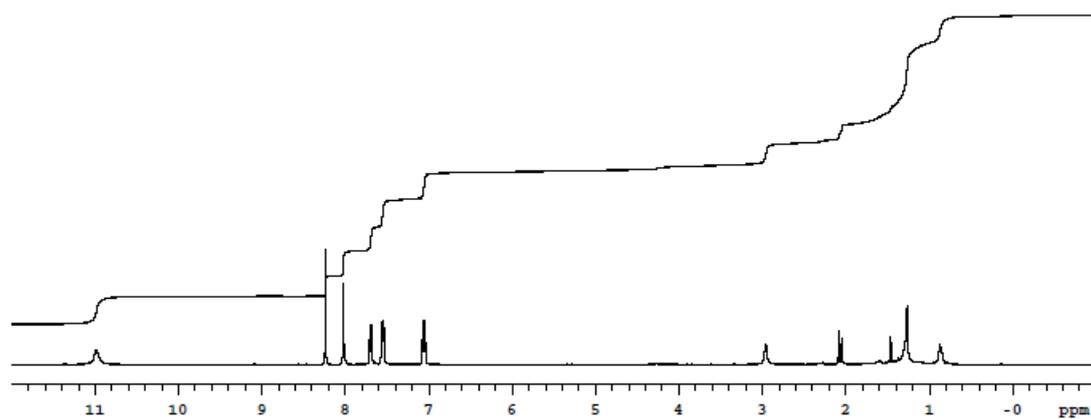
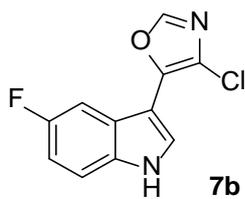


Figure 36. ¹H NMR spectrum of compound 7b

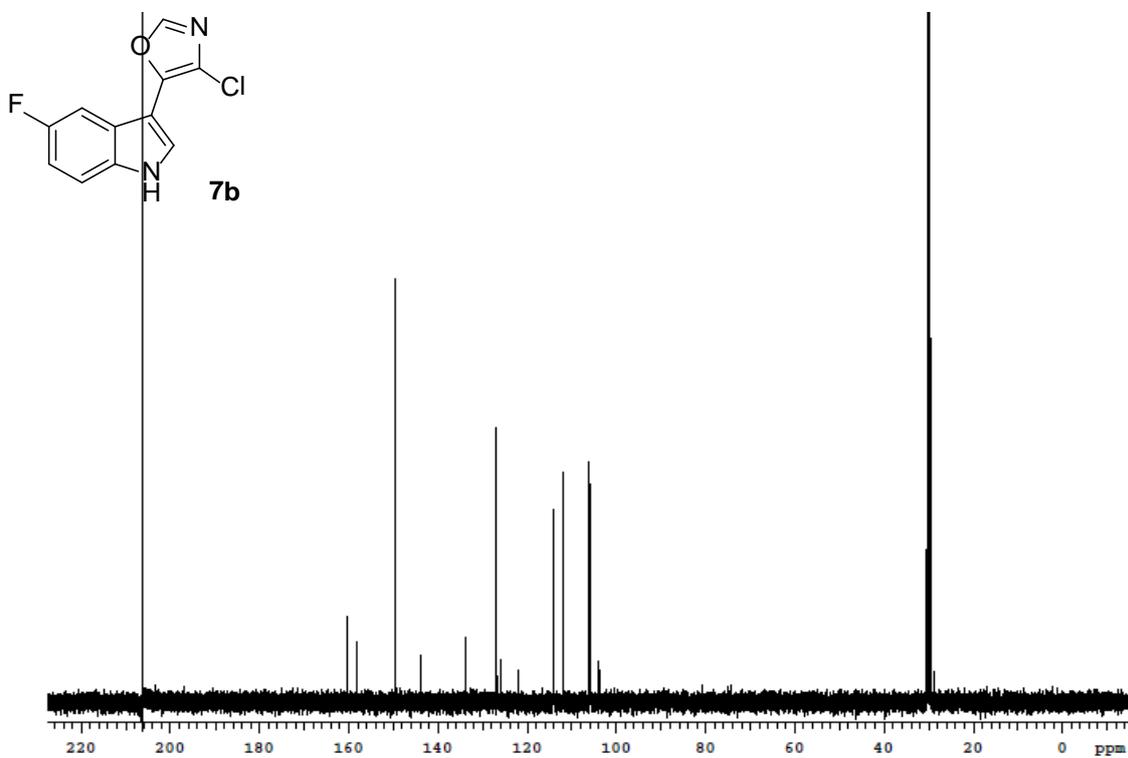


Figure 37. ¹³C NMR spectrum of compound 7b

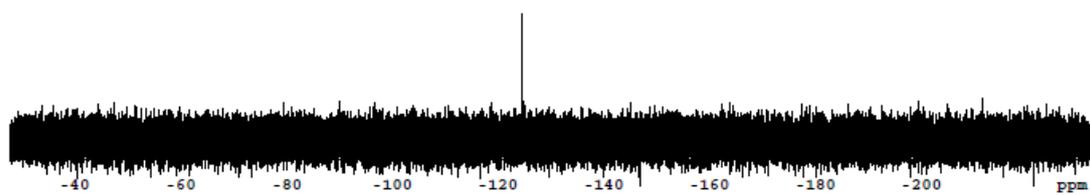
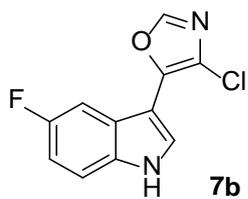


Figure 38. ^{19}F NMR spectrum of compound **7b**

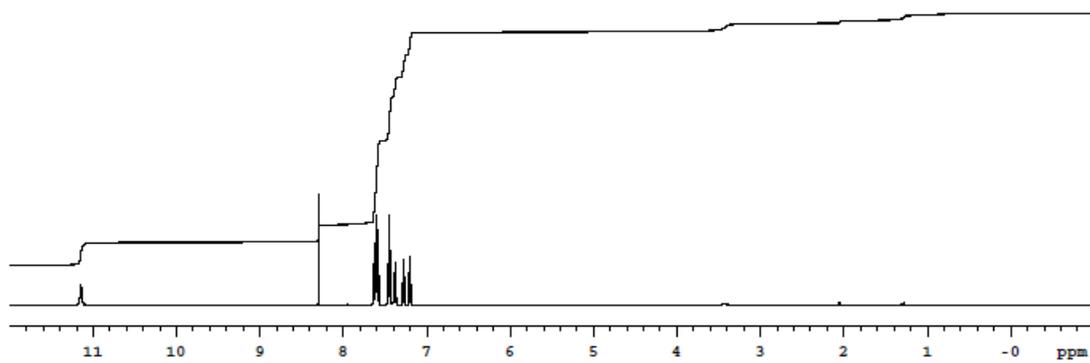
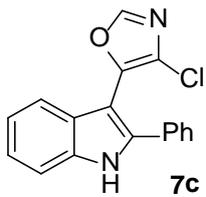


Figure 39. ¹H NMR spectrum of compound 7c

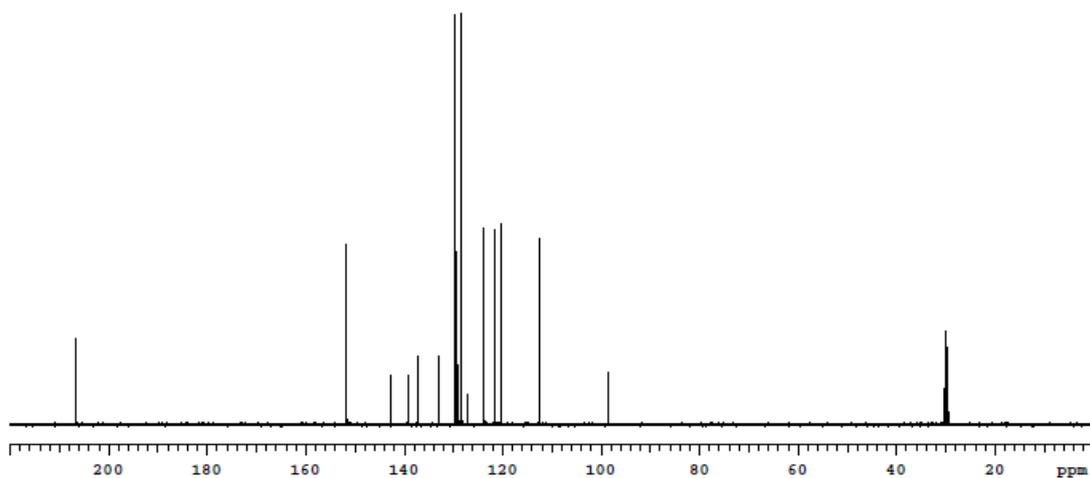
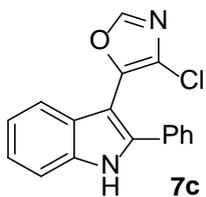


Figure 40. ¹³C NMR spectrum of compound 7c

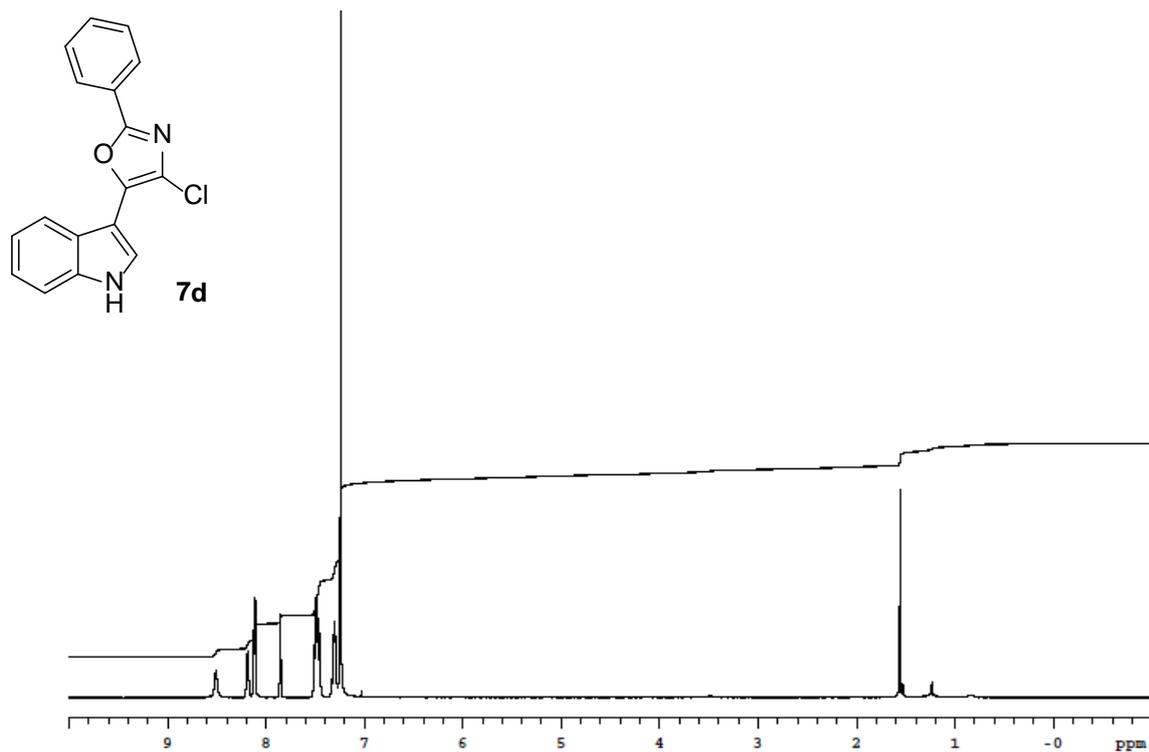


Figure 41. ¹H NMR spectrum of compound 7d

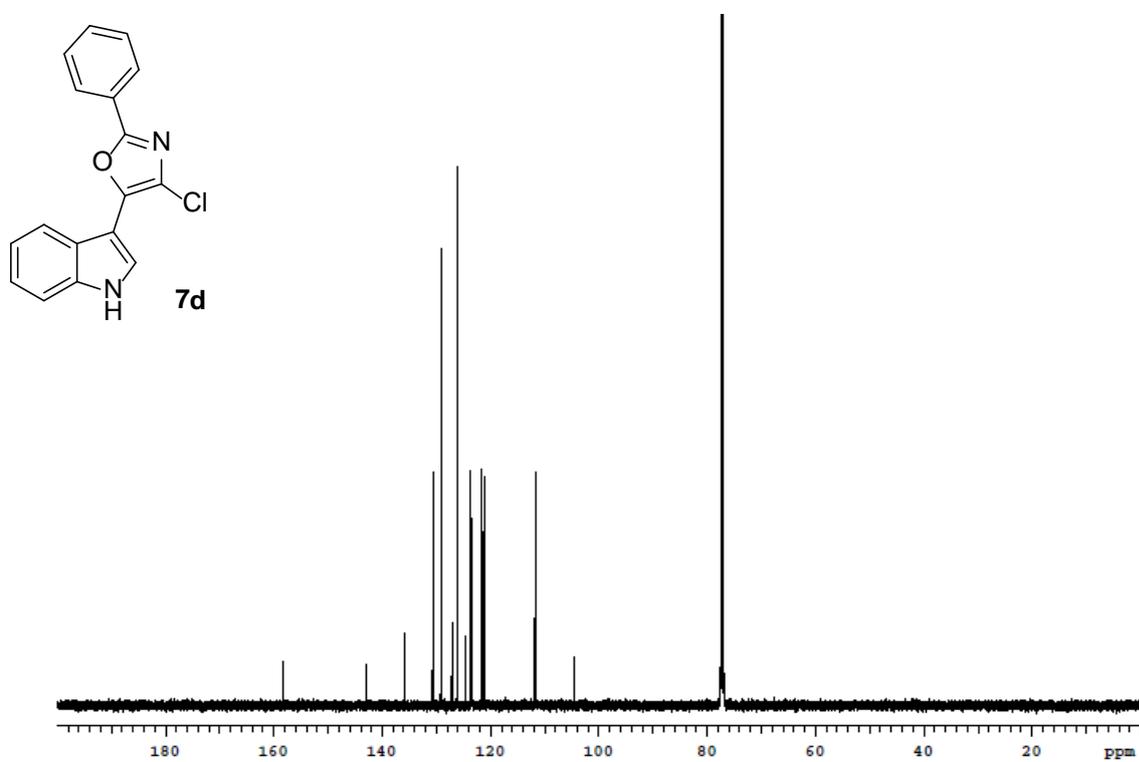


Figure 42. ¹³C NMR spectrum of compound 7d

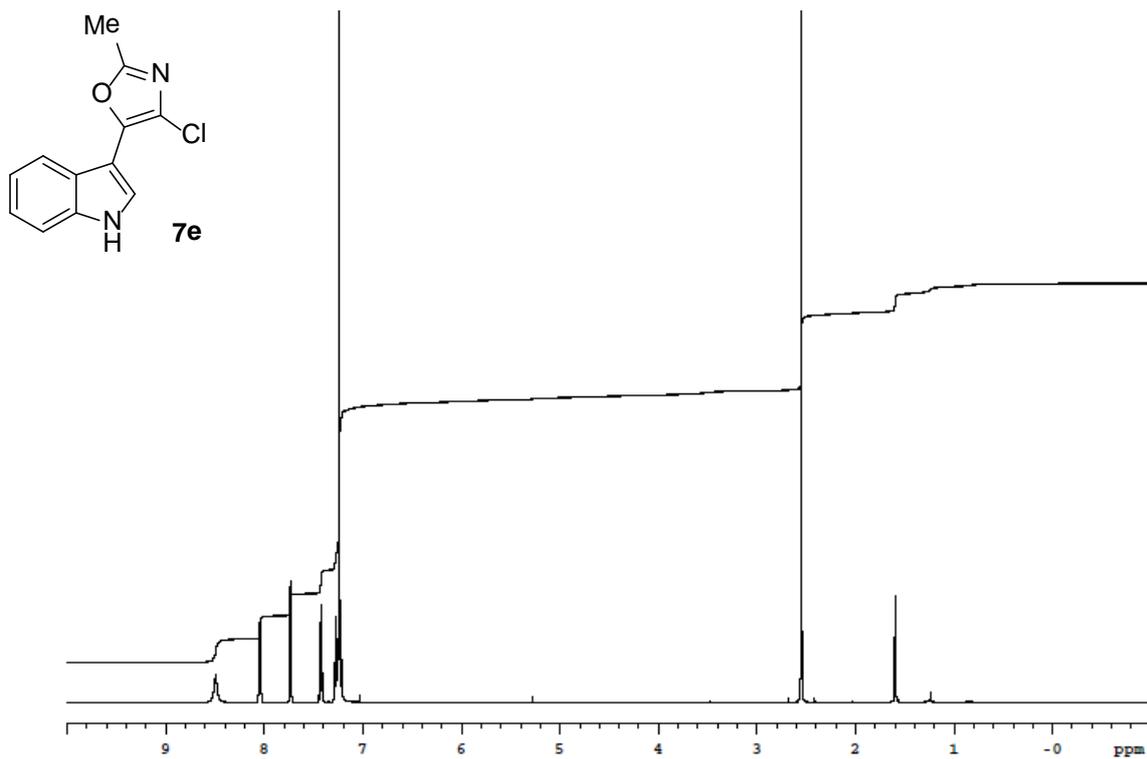


Figure 43. ¹H NMR spectrum of compound 7e

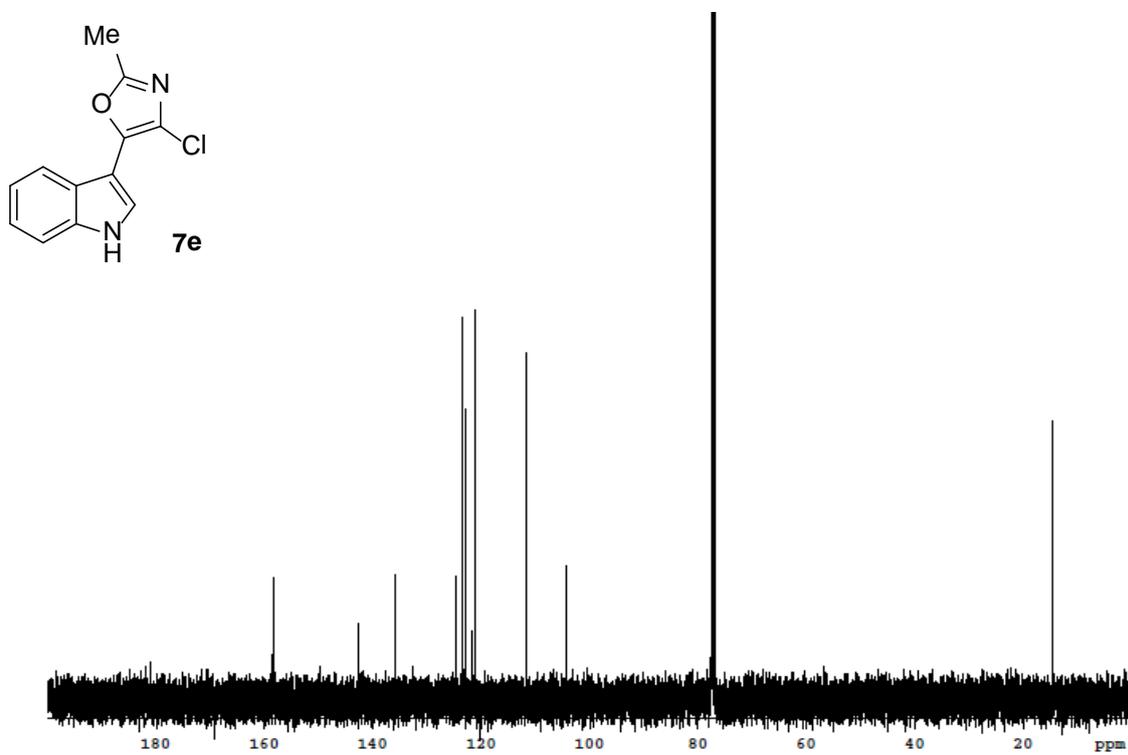


Figure 44. ¹³C NMR spectrum of compound 7e

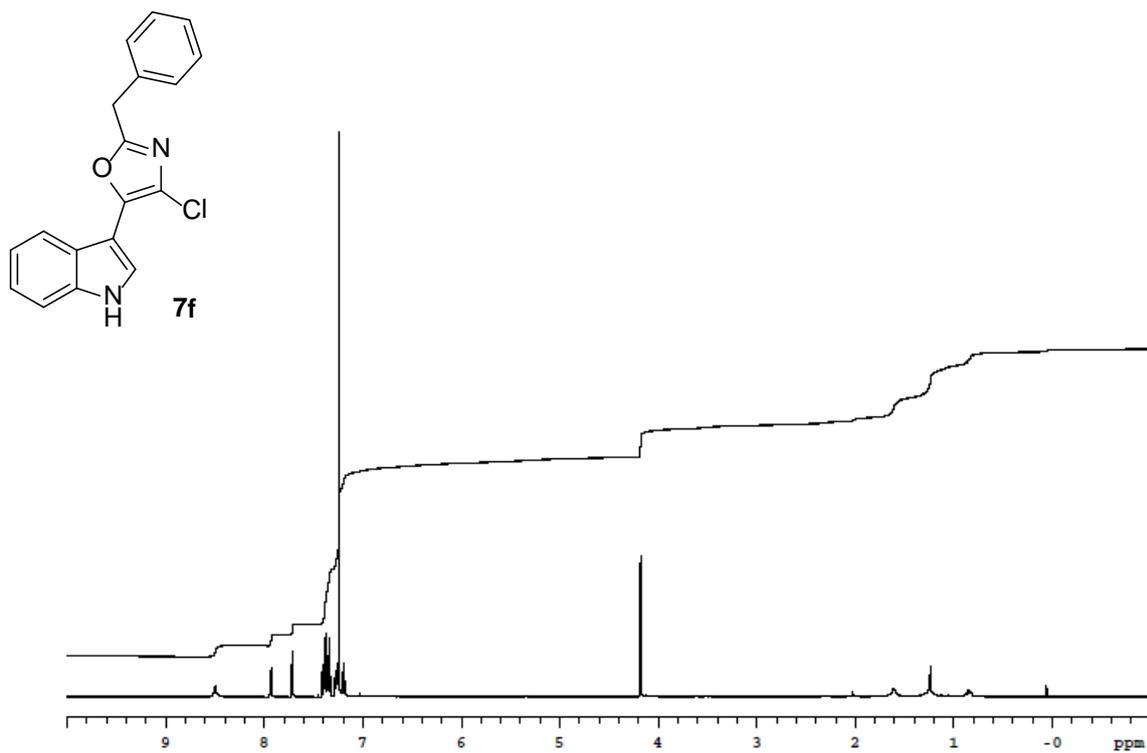


Figure 45. ¹H NMR spectrum of compound 7f

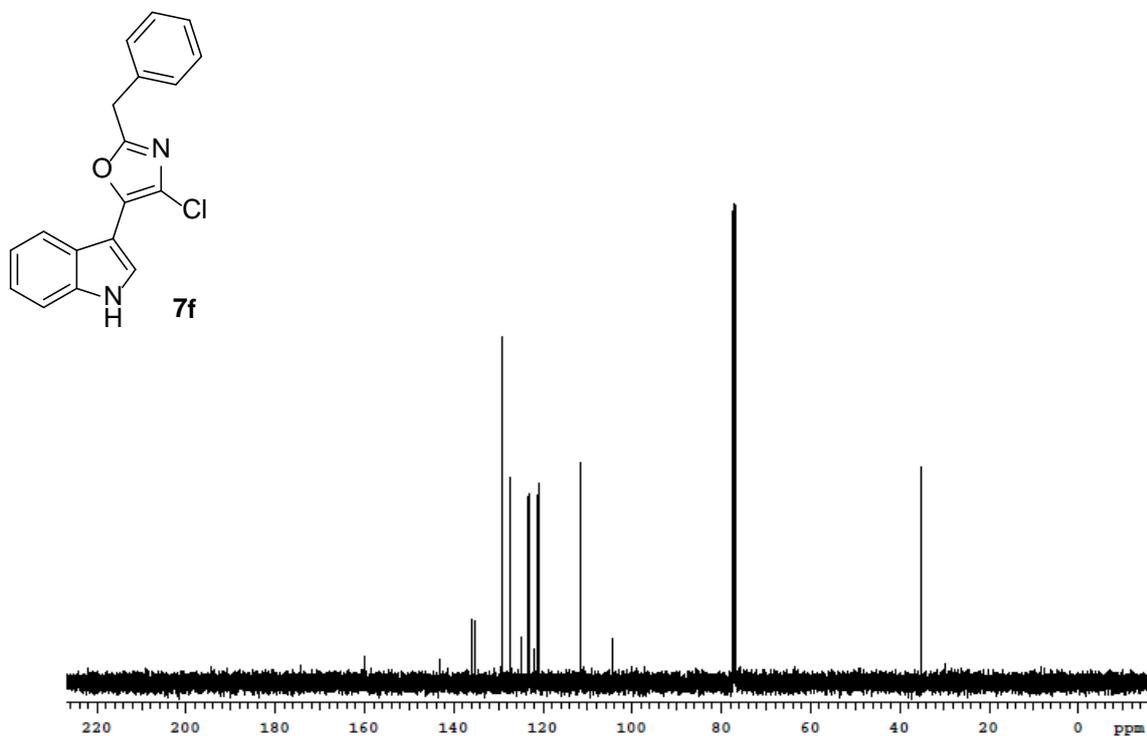


Figure 46. ¹³C NMR spectrum of compound 7f

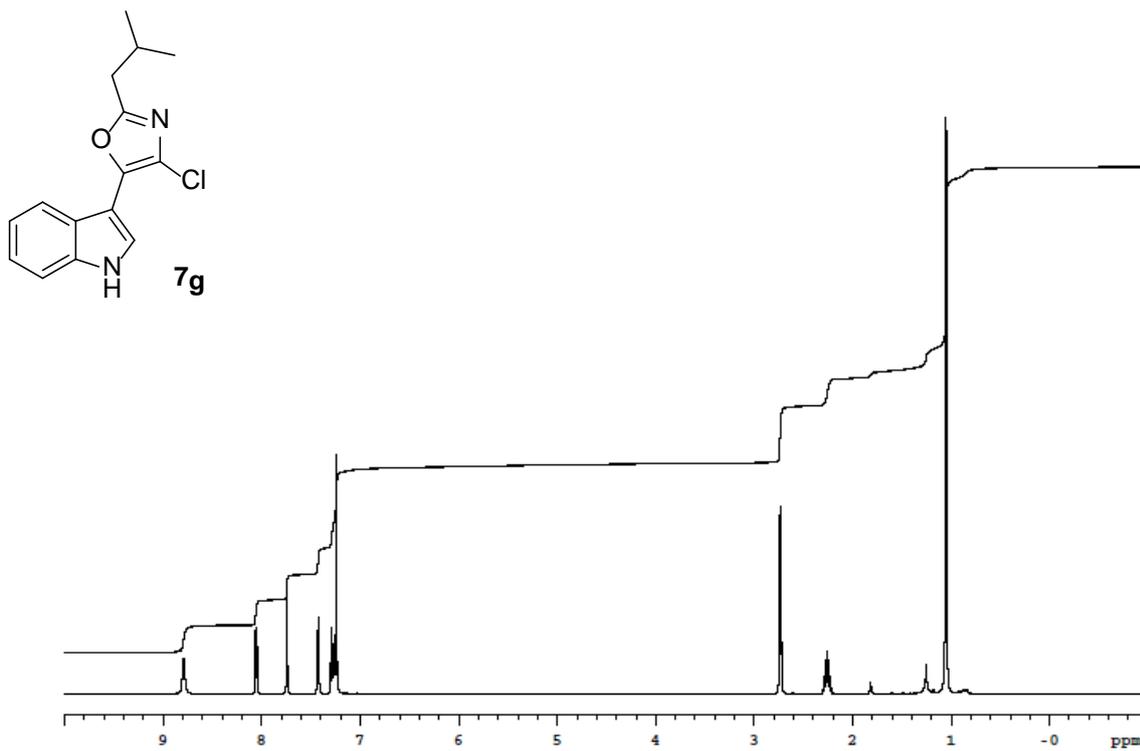


Figure 47. ^1H NMR spectrum of compound **7g**

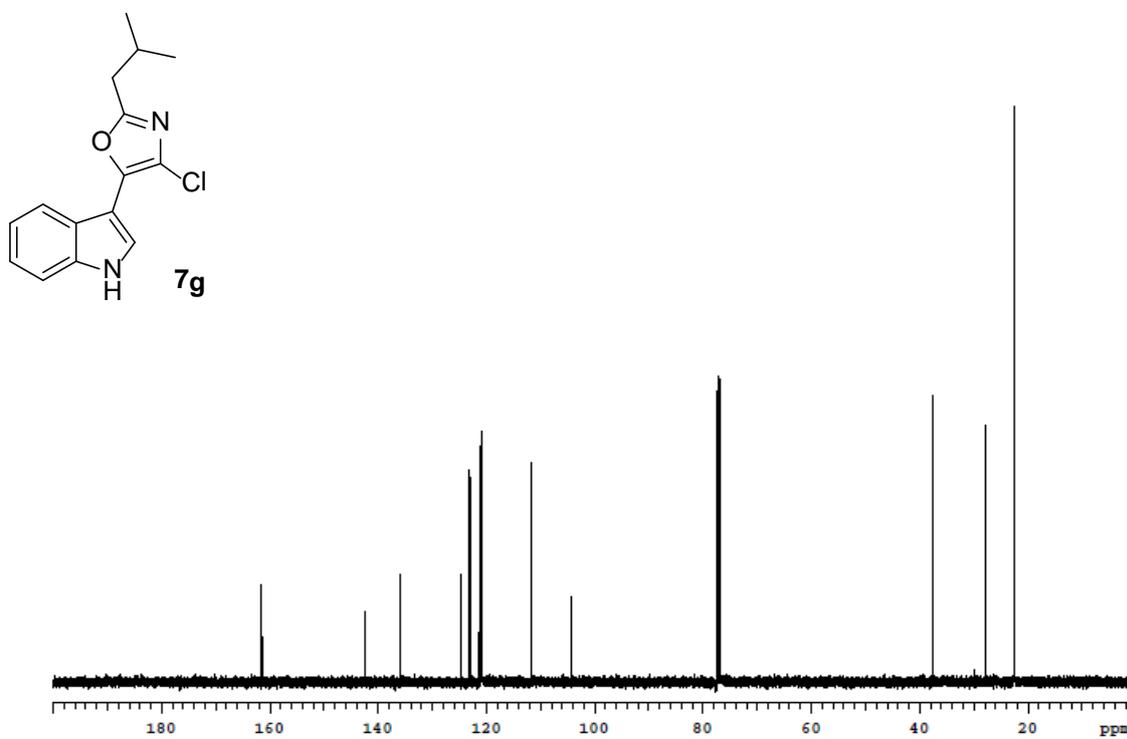


Figure 48. ^{13}C NMR spectrum of compound **7g**

제 2 절 Violapyrone

1. 서론 및 합성 전략

Violapyrone 은 마이크로네시아 죽주에서 채집된 가시면류관 불가사리 (crown-of-thorns starfish)의 streptomyces 계열 공생세균 배양액에서 분리 정제된 해양천연물 군(family)으로서 총 9 개의 α -pyrone 계열 화합물로 구성되어 있다. 최근 추가된 X. Huang 의 연구결과에 의하면 violapyrone 은 흰눈썹긴팔원숭이 (*Hylobates hoolock*)의 배설물로부터 분리된 *Streptomyces violascens* 배양액에서도 존재한다는 것이 보고되기도 하였다.

화학구조적인 면에서 violapyrone 은 중심골격인 α -pyrone 6 번 탄소에 알킬사슬이 연결되어 있는데, 특히 violapyrone C 의 11 번 탄소에 입체화학(stereochemistry)이 있어 화학적 합성을 통한 이 부분의 구조 규명이 요구되고 있다.

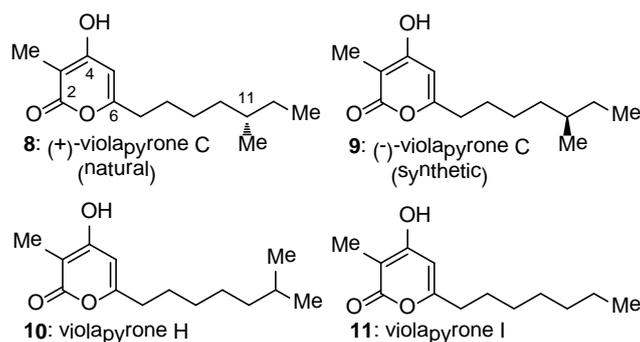


Figure 49. Violapyrone 계열 대표구조

6 종의 NCI 암세포주에 대한 항암활성 측정결과 6 개 모두에 대해서 활성이 있으며 특히 NCI-H23(lung cancer)와 NUGC-3(위선암)에 대한 항암활성이 좋은 것으로 측정결과 밝혀졌다. 특히 종양의 진행, 침투, 전이와 관련이 있는 것으로 알려진 HIF(hypoxia-inducible factor) 기전에서의 효과를 측정하기 위해 hypoxia response element (HRE)에 대하여 luciferase reporter 를 발현하는 HCT116 결장암 세포주를 이용해 생리활성을 측정한 결과 (+)-violapyrone C 가 HIF(hypoxia-inducible factor) 기전에 대해 저해 효과가 있음이 밝혀졌다. 따라서 violapyrone 의 효과적인 합성법 개발은 입체화학 규명과 다양한 유도체 획득을 통한 해양천연물 기반 화학종 다양성 확대를 위한 필수 단계이다.

(+)-Violapyrone C 의 효율적 합성을 위해 역합성분석(retrosynthetic analysis)을 수행한 결과 시판중인 (S)-(-)-2-methyl-1-butanol 을 출발물질로 하여 Corey-Fuchs 반응을 통한 탄소-탄소 삼중결합 도입 그리고 금촉매를 이용한 6-endo-dig intramolecular α -pyrone 고리의 형성 등의 주요 화학 반응을 거쳐 목표물질인 α -pyrone (+)-violapyrone C 을 합성할 수 있을 것으로 예상되었다(Fig. 50).

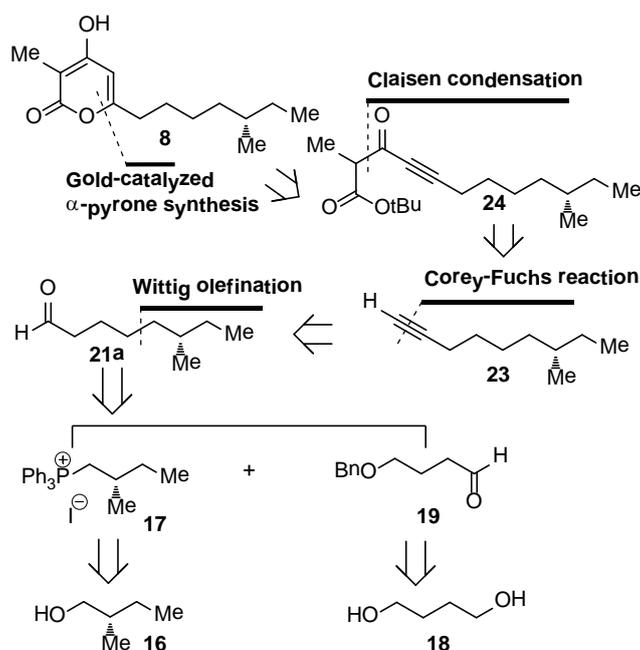
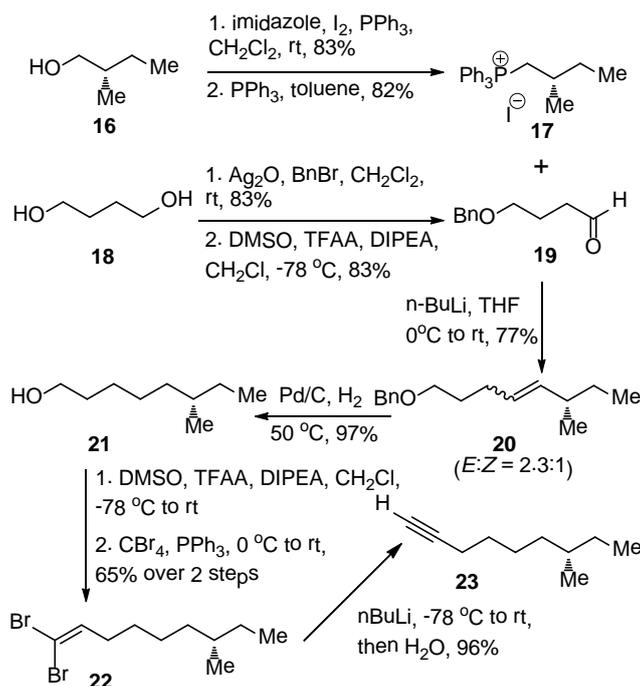


Figure 50. (+)-Violapyrone C 의 역합성 분석

2. 연구결과

앞서 서술한 역합성 분석을 바탕으로 디자인된 (+)-violapyrone C 의 합성은 (S)-(-)-2-methyl-1-butanol 을 출발물질로 하는 hydroxyl 기의 요오드화 반응으로부터 시작된다. 이에 따라 (S)-(-)-2-methyl-1-butanol 을 imidazole, iodine, 그리고 PPh_3 을 이용한 요오드화 반응조건에 적용하고, 생성물은 주요 반응단계인 Wittig olefination 을 위해 PPh_3 과 반응시켜 phosphonium salt 17 을 84%의 수율로 얻었다 (Scheme 3). 또한 Wittig olefination 을 위한 반응 상대물질인 알데히드 19 는 1,4-butanediol 18 의 silver(I) oxide 를 이용한 선택적 benzylation 과 이어진 Swern oxidation 을 통해 82%의 전체 수율로 얻었다(Scheme 3). 이렇게 얻어진 phosphonium salt 10 과 알데히드 19 는 $n\text{-BuLi}$ 을 이용한 Wittig 반응조건을 통해 olefin 20 으로 변환되었다.

Wittig olefination 생성물인 olefin **20** 에 존재하는 benzyl 보호기의 제거와 탄소-탄소 이중결합에서 탄소-탄소 단일결합으로의 변환은 palladium 촉매를 이용한 수소화 반응을 통해 동시에 이루어져 octanol **21** 를 97% 수율로 얻었다(Scheme 3). Nonyne **23** 은 octanol **21** 에서 알데히드로의 산화반응과 이어지는 dibromo olefin **22**, 그리고 리튬-브롬 치환반응 등 일련의 과정을 통해 탄소-탄소 삼중결합을 도입하는 Corey-Fuchs 반응을 통해 합성되었다(Scheme 3).



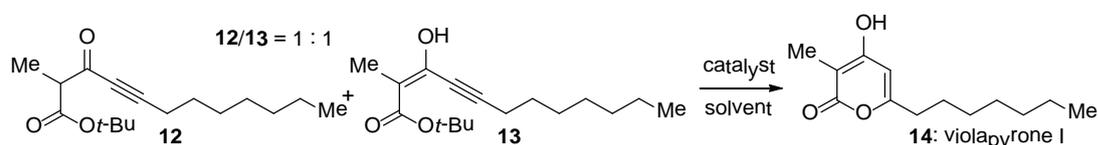
Scheme 3. (+)-Violapyrone C 의 합성도-PartI

Nonyne **23** 에 *n*-butyllithium 과 methyl chloroformate 를 이용하여 에스테르기를 도입하고, 이어 LDA(lithium diisopropylamide)와 *tert*-butyl propionate 를 사용하는 클라이센 중합반응 (Claisen condensation)을 통해 중간체 **24** 과 **25** 의 혼합물을 얻었다(Scheme 4).

마지막 단계로 금 촉매를 이용한 6-*endo*-dig intramolecular alpha-pyrone 합성을 시도하였다. 금은 alkynophilic 성질, 일반 화학기능기와의 반응호환성 등의 장점을 갖고 있어 지난 10 여 년 간 이를 이용한 촉매반응 연구는 빠르게 발전하는 유기화학 연구영역 중 하나였다. 최근 (SPhos)AuNTf₂ (SPhos = 2-dicyclohexylphosphino-2',6'-dimethoxybiphenyl, Tf = trifluoromethanesulfonate)을 이용한 4-hydroxyl-2-pyrone 합성법이 보고된바 있다. 이와 유사하게 β-ketoester 를 적당한

금속촉매와 반응하면 6-*endo*-dig 분자내 고리화 반응을 통해 alpha-pyrone 고리를 형성할 수 있을 것으로 예상하였다. 이를 실험적으로 증명하기 위해 β -ketoester **12** 와 tautomer **13** 혼합물을 모델시스템으로 하여 다양한 금속촉매와 반응을 시도하였다 (Table 1). PdCl₃, Ag₂CO₃, InCl₃, Sc(OTf)₃, AuCl₃ 등의 금속촉매를 이용한 반응에서는 낮은 변환율과 낮은 수율을 보였지만 ([Bis(trifluoromethanesulfonyl)imidate](triphenylphosphine)-gold(I) (2:1) toluene adduct) **15** 와의 반응에서는 만족할 만한 반응결과를 얻을 수 있었다. 예를 들면 아세트산과 니트로메탄(MeNO₂) 4:1 혼합용액에서 반응은 성공적으로 진행되어 원하는 물질인 화합물 **7** 을 73%의 수율로 얻을 수 있었다(entry 10, Table 1).

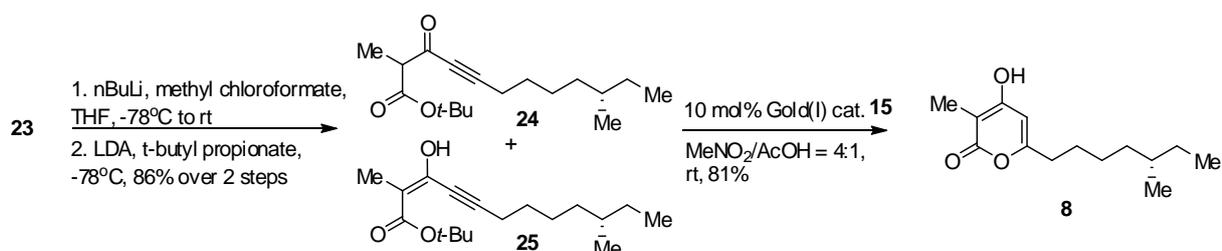
Table 1. 금속촉매를 이용한 2-pyrone 합성



entry ^a	catalyst (10 mol%)	solvent ^b	conversion (%) ^c	entry ^a	catalyst (10 mol%)	solvent	conversion (%) ^c
1 ^d	PdCl ₃		11	6 ^e	(Ph ₃ P)AuN Tf ₂ ^h	toluene	91
2 ^d	Ag ₂ CO ₃	AcOH/MeNO ₂	34	7 ^e	gold(I) cat. 15	CH ₂ Cl ₂	86
3 ^d	InCl ₃		trace	8 ^e		THF	82
4 ^d	Sc(OTf) ₃		trace	9 ^f		AcOH/MeCN ^b	100 (69) ^g
5 ^d	AuCl ₃		23	10 ^f		AcOH/MeNO ₂ ^b	100 (73) ^g

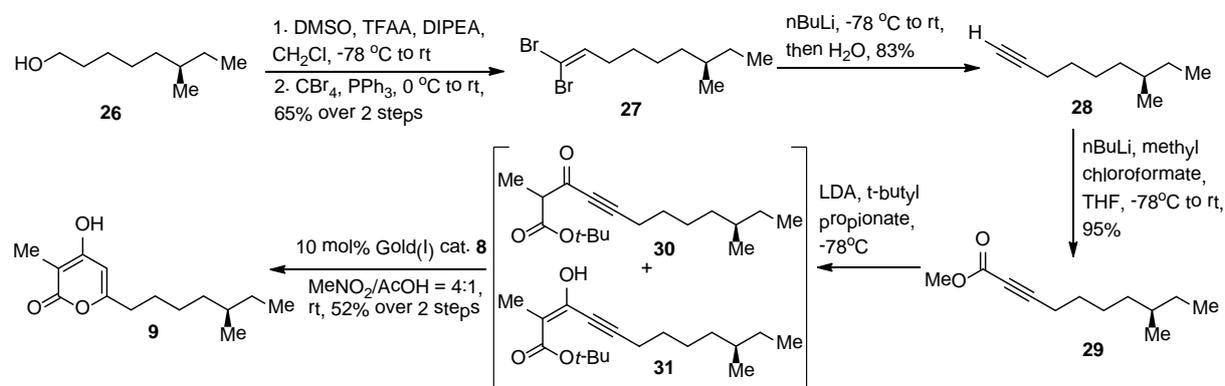
[a] The reactions were performed under N₂ atmosphere at room temperature. [b] A 4:1 mixture of acetic acid and the indicated solvent. [c] Conversion percentages were determined by ¹H NMR. [d] Reaction quenched after 44 hr. [e] Reaction quenched after 20 hr. [f] Reaction completed in 15 hr. [g] The value in parentheses indicates the isolated yields. [h] [Bis(trifluoromethanesulfonyl)imidate](triphenylphosphine)gold(I) (2:1) toluene adduct was used.

이 반응조건을 β -ketoester **24** 와 tautomer **25** 에 적용하여 목표물질 **8** 을 합성하였다.



Scheme 4. (+)-Violapyrone C 의 합성도-PartII

이와 병행으로 같은 합성경로를 이용하여 화합물 8 의 광이성질체인 화합물 9 를 효과적으로 합성하였다 (Scheme 5).



Scheme 5. 합성된 violapyrone 유도체

생물로부터 얻어진 천연물질과 합성물질이 동일함을 밝히기 위해 두 물질의 광회전(optical rotation)을 분석한 결과 생물유래 물질의 경우 $[\alpha]_d = +50$ (c 0.1, MeOH)이고 합성물질의 $[\alpha]_d = +49$ (c 0.1, MeOH)로서 동일한 물질임이 입증되었고 이밖에 $^1\text{H NMR}$, $^{13}\text{C NMR}$, mass spectroscopy 데이터 등도 천연물과 일치하여 (+)-violapyrone C 이 합성되었음이 증명되었다(Fig. 51).

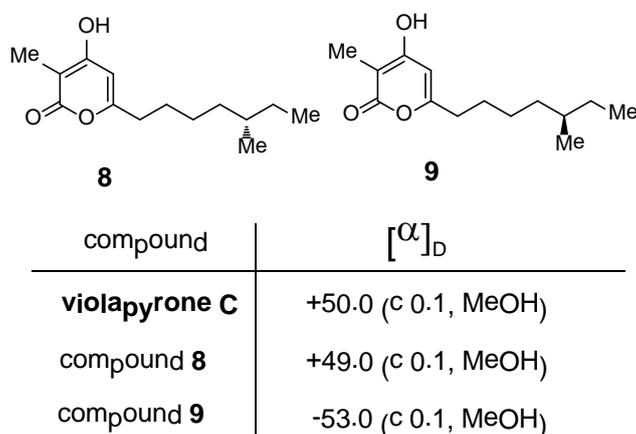


Figure 51. 합성된 violapyrone C 의 optical rotation 비교

또한 수득율 측면에서 출발물질 9 로부터 목표물질까지의 합성 전체 수율이 22%로서 효율적으로 물질을 확보하는데 적합한 합성방법임이 확인되었다.

3. 실험방법 및 데이터

All reactions were carried out under nitrogen unless otherwise indicated. Anhydrous methylene chloride (CH_2Cl_2), toluene, acetonitrile (MeCN), dimethyl

sulfoxide (DMSO), nitromethane (MeNO₂) and tetrahydrofuran (THF) were directly used from commercial source. The concentration of nBuLi was titrated using (-)-menthol and 1,10-phenanthroline. All other reagents were used without further purification. All work-up, wash, and chromatographic solvents were distilled. Sodium sulfate (Na₂SO₄) was anhydrous. Thin layer chromatography (TLC) was used to monitor the progress of reactions by co-spotting with the starting materials. *p*-Anisaldehyde (1350 mL absolute ethanol, 50 mL concentrated H₂SO₄, 37 mL *p*-anisaldehyde) was utilized as a common TLC visualizing solution. Flash chromatographic purifications were performed using silica gel (230–400 mesh). ¹H NMR, and ¹³C NMR data were recorded on Varian 500-NMR in chloroform-*d*₁ as a solvent and are described in parts per million (ppm) from the residual chloroform (7.24 ppm and 77.23 ppm). Peak multiplicates in ¹H NMR spectra are abbreviated as s (singlet), d (doublet), t (triplet), m (multiplet), dd (doublet of doublet), q (quartet), and dt (doublet of triplet). Mass spectra were performed by Surveyor MSQ Benchtop LC/MS (Thermo Finnigan) and 6128 Quadropole LC/MS (Agilent Technologies) in KIOST.

(S)-(((6-Methyloct-4-en-1-yl)oxy)methyl)benzene **20**: A mixture of phosphonium iodide **17** (2.3 g, 5.00 mmol) and THF was cooled to 0 °C, and *n*-BuLi in hexanes (1.85M, 2.7 ml, 5.00 mmol) was added. After the mixture was stirred at room temperature for 30min., a solution of aldehyde **19** (1.2 g, 6.50 mmol, 1.3 equiv.) in THF was added at 0 °C. The reaction mixture was stirred at room temperature for 1 h, saturated aqueous NH₄Cl was added, and the resulting mixture was extracted with pentane, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash column chromatography (CH₂Cl₂/Pentane = 5:95 to 15:85) to give olefin **20** (892.1 mg, 3.84 mmol, 77%) (2.3:1 mixture of (*E*) and (*Z*)-isomers): ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 7.33–7.34 (d, *J* = 4.1 Hz, 4H), 7.26–7.29 (m, 1H), 5.29–5.34 (m, 1H), 5.11–5.16 (t, *J* = 10.3 Hz, 1H), 4.50 (s, 2H), 3.47–3.49 (t, *J* = 6.5 Hz, 2H), 2.33–2.36 (m, 1H), 2.07–2.16 (m, 2H), 1.65–1.71 (m, 2H), 1.17–1.35 (m, 2H), 0.92–0.93 (d, *J* = 6.6 Hz, 3H), 0.82–0.85 (t, *J* = 7.4 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 138.9, 137.0, 136.97, 128.5, 127.92, 127.88, 127.82, 127.81, 127.7, 73.10, 73.07, 70.1, 70.0, 38.6, 33.5, 30.4, 30.2,

30.1, 29.9, 29.3, 24.3, 21.2, 20.6, 12.2, 12.0; HRMS(ESI) for C₁₆H₂₃O [M-H]⁻ calcd. 231.1749, found 231.1768.

(S)-6-Methyloctan-1-ol **21**: A mixture of olefin **20** (656.0 mg, 2.82 mmol) and 10% palladium on carbon (27.0 mg, 9.0 mol%) was stirred under hydrogen at 50 °C for 45 h. After completion of the reaction, the catalyst was removed by filtration through a Celite pad and the filter cake was washed with CH₂Cl₂. The filtrate concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash column chromatography (EtOAc/*n*-Hexane = 1:20 to 1:5) to give primary alcohol **21** (395.9 mg, 2.74 mmol, 97%): ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃) δ 3.60–3.62 (t, *J* = 6.6 Hz, 2H), 1.52–1.57 (m, 2H), 1.22–1.32 (m, 7H), 1.06–1.12 (m, 2H), 0.81–0.84 (t, *J* = 7.5 Hz, 3H), 0.81–0.83 (d, *J* = 7.8 Hz, 3H); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃) δ 63.3, 36.8, 34.5, 33.0, 29.7, 27.1, 26.3, 19.4, 11.6; HRMS(ESI) for C₉H₂₀O [M]⁺ calcd. 144.1514, found 144.0677.

(S)-1,1-Dibromo-7-methylnon-1-ene **22**: To a solution of DMSO (436.6 ul, 6.15 mmol, 6.0 equiv.) in CH₂Cl₂ at -78 °C was added dropwise TFAA (427.3 ul, 3.07 mmol, 3.0 equiv.). After stirring at -78 °C for 10 min. a solution of primary alcohol **21** (147.7 mg, 1.02 mmol) in CH₂Cl₂ was added dropwise. The resultant cloudy mixture was stirred at -78 °C for 1 h. DIPEA (892.4 ul, 5.12 mmol, 5.0 equiv.) was added slowly and the reaction mixture was allowed to warm to room temperature for 2 h. The reaction was diluted with EtOAc, and quenched with H₂O. The organic layer was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash column chromatography (EtOAc/*n*-Hexane = 1:40) to give **21a** (123.5 mg, 0.87 mmol, 85%). A solution of carbon tetrabromide (575.9 mg, 1.74 mmol, 2.0 equiv.) in CH₂Cl₂ was stirred at room temperature, and the solution was cooled in an ice bath. Triphenylphosphine (911.0 mg, 3.47 mmol, 4.0 equiv.) was added in 0 °C and the reaction was stirred for 1 h. To this reaction was added a solution of **21a** (123.5 mg, 0.87 mmol) in CH₂Cl₂. The solution was warmed to room temperature and stirred for 18 h. The reaction was diluted with CH₂Cl₂, and quenched with H₂O. The organic layer was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated

in vacuo. The crude residue was purified by flash column chromatography (100% Pentane) to give dibromoolefin **22** (200.5 mg, 0.67 mmol, 65%(over 2 steps)): ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 6.35–6.38 (t, $J = 7.0$ Hz, 1H), 2.05–0.10 (q, 2H), 1.38–1.39 (m, 2H), 1.25–1.30 (m, 5H), 1.07–1.13 (m, 2H), 0.83–0.85 (t, $J = 7.2$ Hz, 3H), 0.83–0.84 (d, $J = 6.8$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(125 MHz, CDCl_3) δ 139.1, 88.7, 36.5, 34.5, 33.3, 29.7, 28.4, 26.8, 19.4, 11.6; HRMS(ESI) for $\text{C}_{10}\text{H}_{19}\text{Br}_2$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ calcd. 296.9853, found 296.9890.

(S)-7-Methylnon-1-yne **23**: Dibromoolefin **22** (755.5 mg, 2.53 mmol) was dissolved in THF under N_2 and cooled to -78°C . The solution was treated with *n*-BuLi in hexanes (1.85M, 5.9 ml, 10.90 mmol), stirred. After 1 h, the reaction was allowed to warm to room temperature and stirred. After 3 hr, the reaction was treated with H_2O , and extracted with pentane, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash column chromatography (100% pentane) to give **23** (337.3 mg, 2.44 mmol, 96%): ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 2.15–2.18 (dt, $J = 7.2$ Hz, 2H), 1.91–1.92 (t, $J = 2.7$ Hz, 1H), 1.46–1.53 (m, 2H), 1.25–1.44 (m, 5H), 1.06–1.14 (m, 2H), 0.82–0.85 (t, $J = 6.8$ Hz, 3H), 0.82–0.84 (d, $J = 6.4$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(125 MHz, CDCl_3) δ 85.0, 68.3, 36.2, 34.5, 29.7, 29.0, 26.5, 19.4, 18.6, 11.6; HRMS(ESI) for $\text{C}_{10}\text{H}_{17}$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ calcd. 137.1330, found 137.1341.

(10S)-*tert*-Butyl 2,10-dimethyl-3-oxododec-4-ynoate **24**: To a cold solution (-78°C) of terminal alkyne **23** (22.8 mg, 0.16 mmol) in THF under N_2 was added *n*-BuLi in hexanes (1.85M, 142.6 μl , 0.2638 mmol). The resulting mixture was stirred for 40min. and methyl chloroformate was added and the reaction mixture allowed warming to room temperature. The reaction was diluted with diethyl ether, and quenched with H_2O . The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash column chromatography (EtOAc/*n*-Hexane = 1:30) to give **23a** (31.3 mg, 0.16 mmol, quantitative). *tert*-Butyl propionate (59.7 μl , 0.39 mmol, 3.0 equiv.) was added dropwise to a stirred solution of LDA solution (2.0M, 1.31 mmol, 10.0 equiv.) at -78°C . The mixture was stirred at this temperature for 30min. before **23a** (25.8 mg,

0.13 mmol) was slowly introduced and stirring continued at -78°C for 2 h. The reaction was diluted with diethyl ether, and quenched with sat. NH_4Cl . The organic layer was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash column chromatography (EtOAc/*n*-Hexane = 1:35) to give **24** (34.3 mg, 0.12 mmol, 86% (over 2 steps)): ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3) δ 12.27 (s, 1H), 3.40–3.44 (q, 1H), 2.39–2.41 (t, $J = 7.0$ Hz, 2H), 2.34–2.37 (t, $J = 7.1$ Hz, 2H), 1.81 (s, 3H), 1.55 (m), 1.48 (s, 9H), 1.45 (s, 9H), 1.25–1.32 (m), 1.07–1.12 (m), 0.82–0.85 (t, $J = 7.0$ Hz, 6H), 0.82–0.84 (d, $J = 6.6$ Hz, 6H); ^{13}C NMR(125 MHz, CDCl_3) δ 183.8, 173.2, 169.0, 152.1, 104.5, 100.1, 96.8, 82.0, 81.9, 79.7, 75.3, 56.1, 49.9, 36.2, 36.1, 34.5, 34.4, 29.624, 29.617, 28.6 28.4, 28.32, 28.27, 28.22, 28.19, 28.17, 28.09, 28.0, 26.6, 26.6, 19.7, 19.4, 19.34, 19.26, 14.0, 13.6, 13.0, 11.6; HRMS(ESI) for $\text{C}_{18}\text{H}_{29}\text{O}_3$ $[\text{M}-\text{H}]^-$ calcd. 293.2117, found 293.2127.

(S)-4-Hydroxy-3-methyl-6-(5-methylheptyl)-2H-pyran-2-one **8**: A solution of gold(I) cat. **15** (9.2 mg, 0.01 mmol, 10.0 mol%) and **24** (34.3 mg, 0.12 mmol) in $\text{MeNO}_2/\text{AcOH}$ (4:1) was stirred for 20 h at room temperature. The reaction was diluted with EtOAc, and quenched with sat. NaHCO_3 . The organic layer was washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated *in vacuo*. The crude residue was purified by flash column chromatography (EtOAc/*n*-Hexane = 1:4 to 1:2) to give compound **8** (22.5 mg, 0.09 mmol, 81%): ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD) δ 5.99 (s, 1H), 2.47(t, $J = 7.6$ Hz, 2H), 1.85 (s, 3H), 1.62 (m, 2H), 1.36 (m, 2H), 1.33 (m, 2H), 1.32 (m, 1H), 1.15 (m, 2H), 0.87 (t, $J = 7.0$ Hz, 3H), 0.87 (d, $J = 6.5$ Hz, 3H); ^{13}C NMR(125 MHz, CD_3OD) δ 169.3, 168.2, 165.0, 101.3, 99.0, 37.5, 35.7, 34.4, 30.7, 28.4, 27.6, 19.7, 11.9, 8.4; HRMS(ESI) for $\text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}_3$ $[\text{M}]^-$ calcd. 238.1569, found 238.1564.

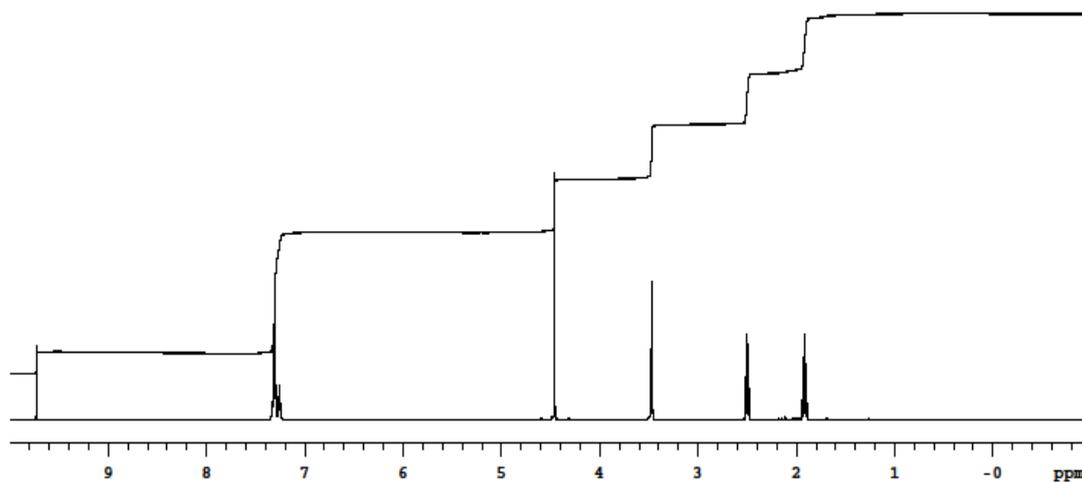
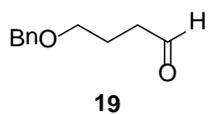


Figure 52. ^1H NMR Spectra of 4-(benzyloxy)butanal (**19**) in CDCl_3

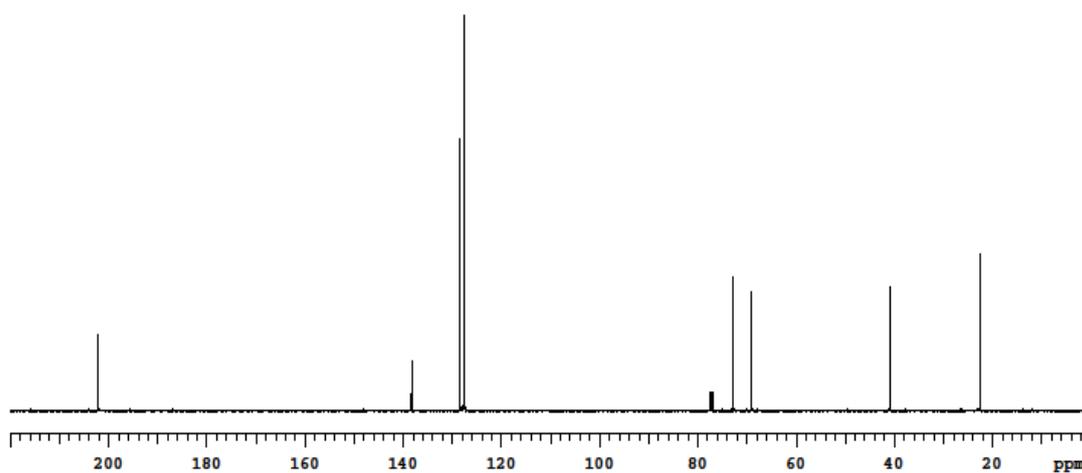
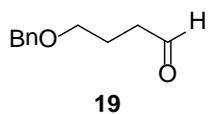


Figure 53. ^{13}C NMR Spectra of 4-(benzyloxy)butanal (**19**) in CDCl_3

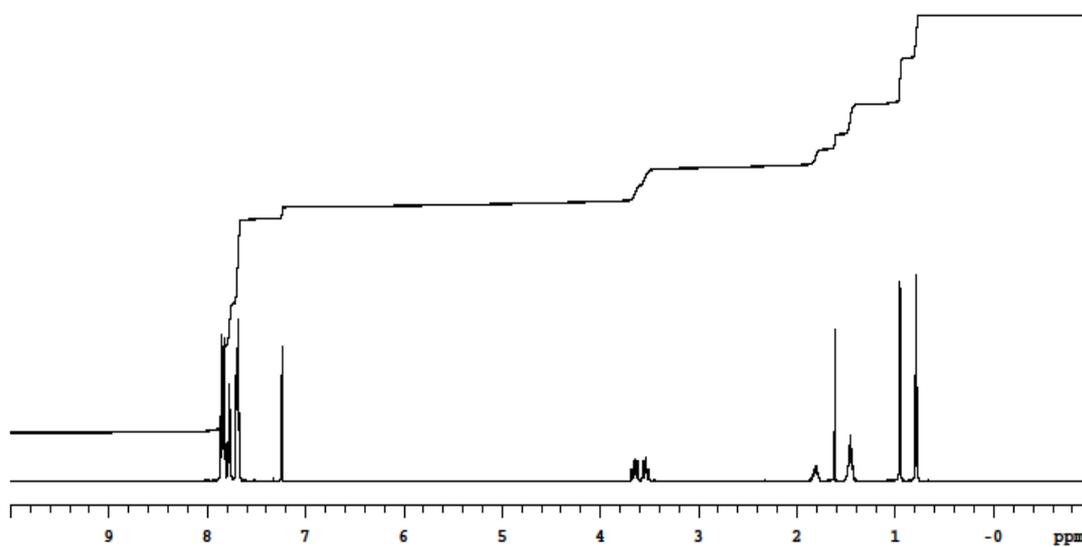
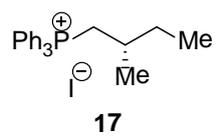


Figure 54. ^1H NMR Spectra of **17** in CDCl_3

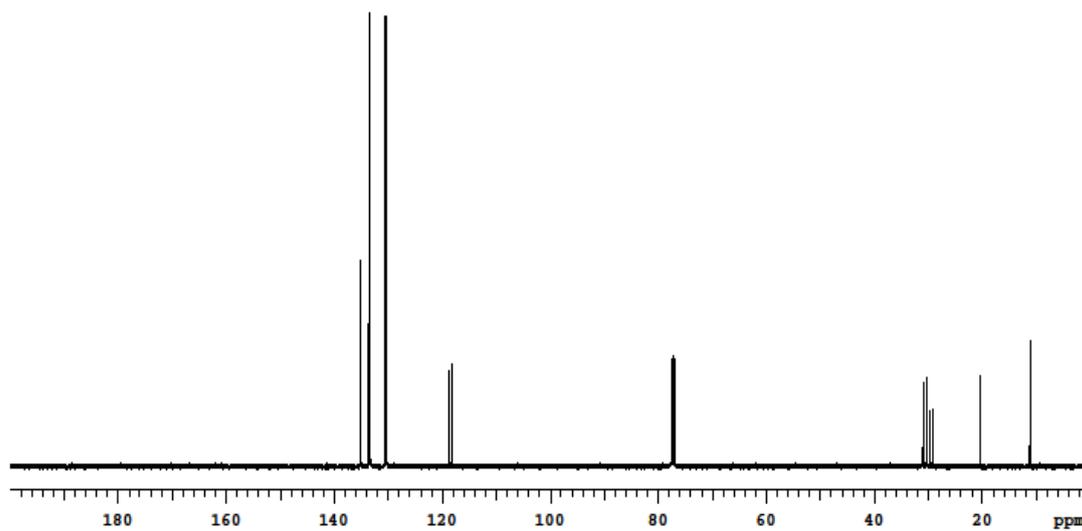
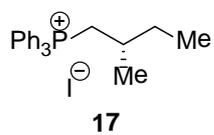


Figure 55. ^{13}C NMR Spectra of **17** in CDCl_3

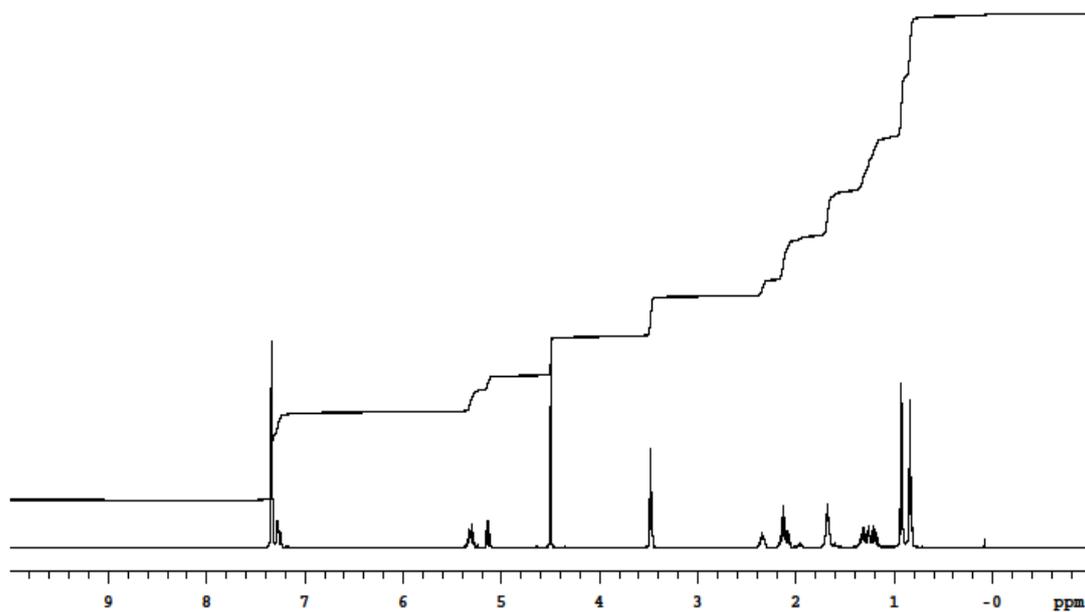
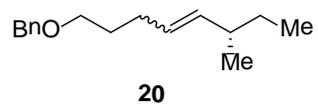


Figure 56. ^1H NMR Spectra of **20** in CDCl_3

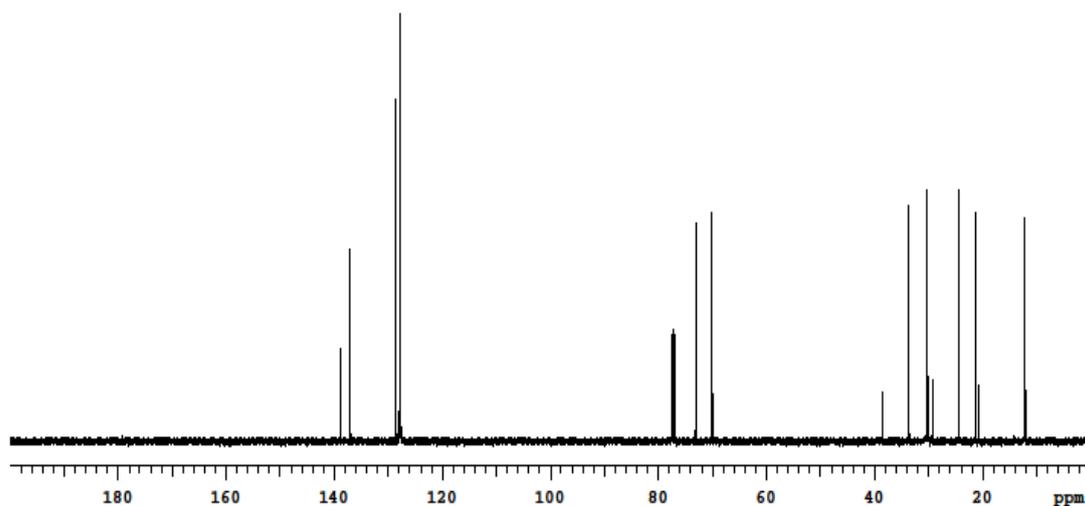
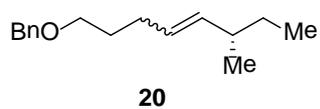


Figure 57. ^{13}C NMR Spectra of **20** in CDCl_3

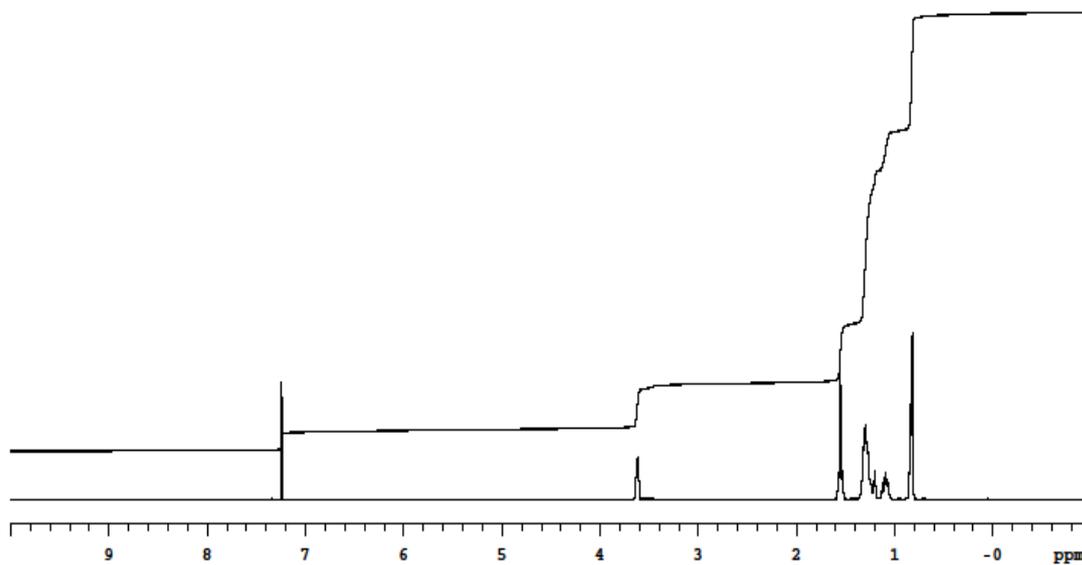
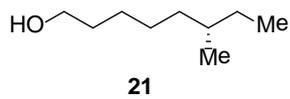


Figure 58. ^1H NMR Spectra of (S)-6-methyloctan-1-ol (**21**) in CDCl_3

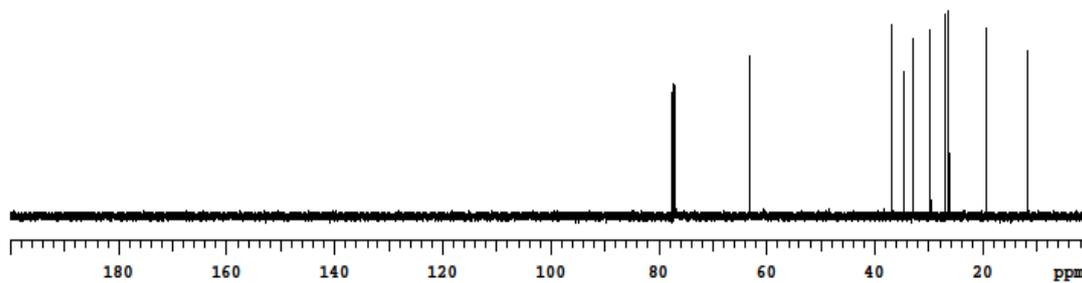
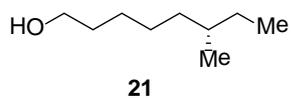


Figure 59. ^{13}C NMR Spectra of (S)-6-methyloctan-1-ol (**21**) in CDCl_3

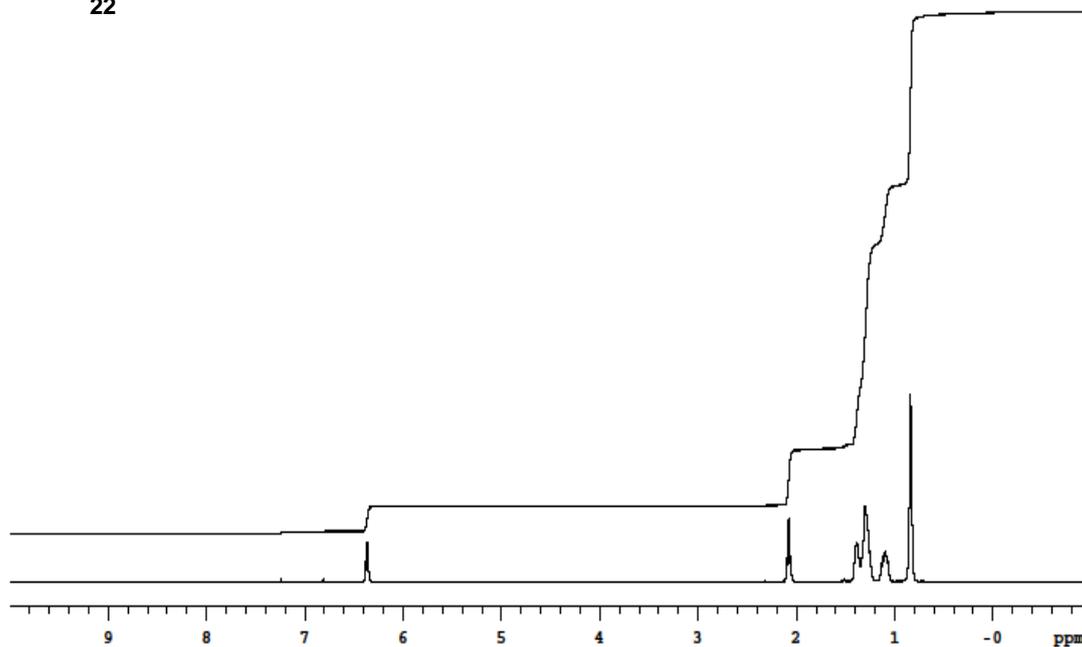
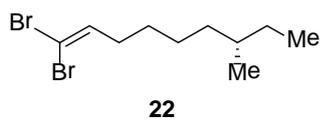


Figure 60. ^1H NMR Spectra of **22** in CDCl_3

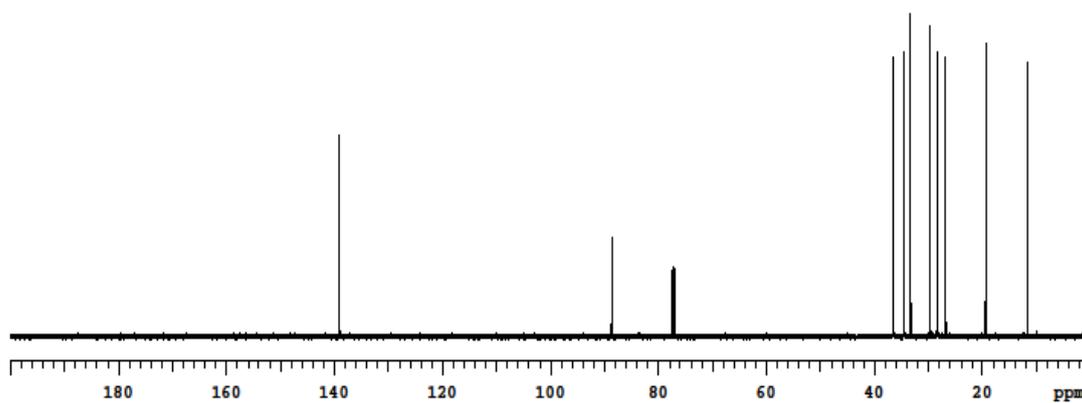
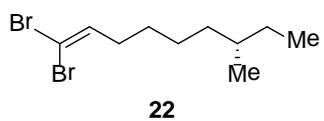


Figure 61. ^{13}C NMR Spectra of **22** in CDCl_3

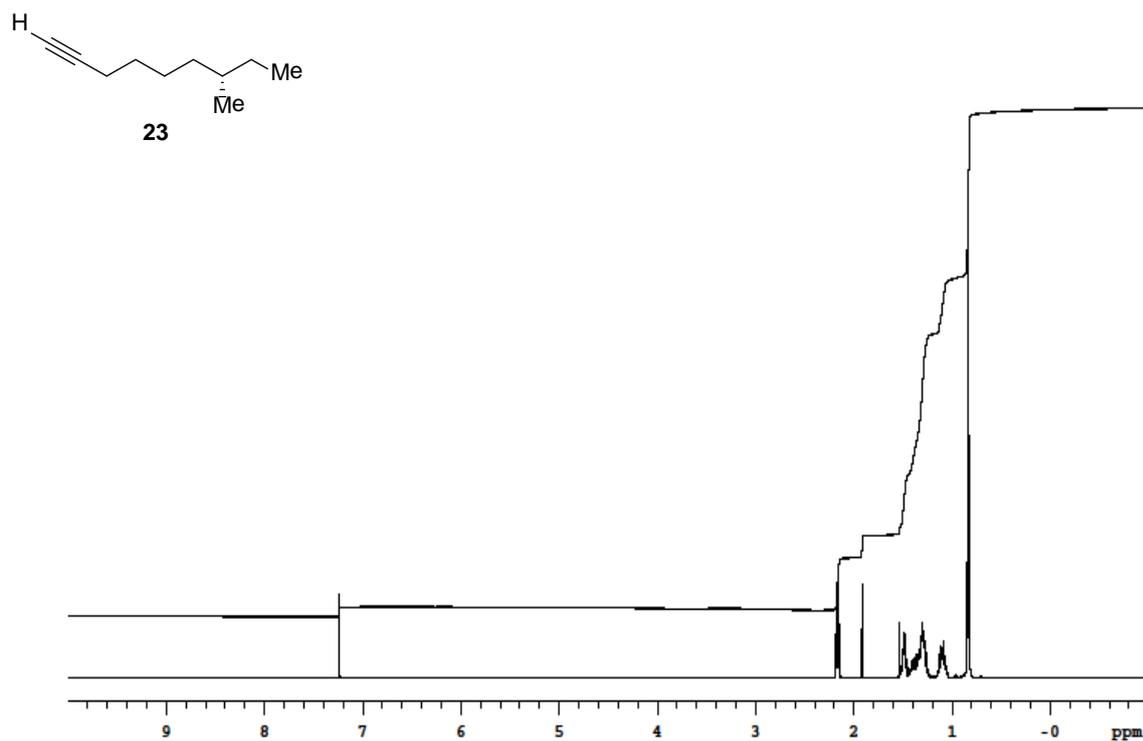


Figure 62. ¹H NMR Spectra of (S)-7-methylnon-1-yne (**23**) in CDCl₃

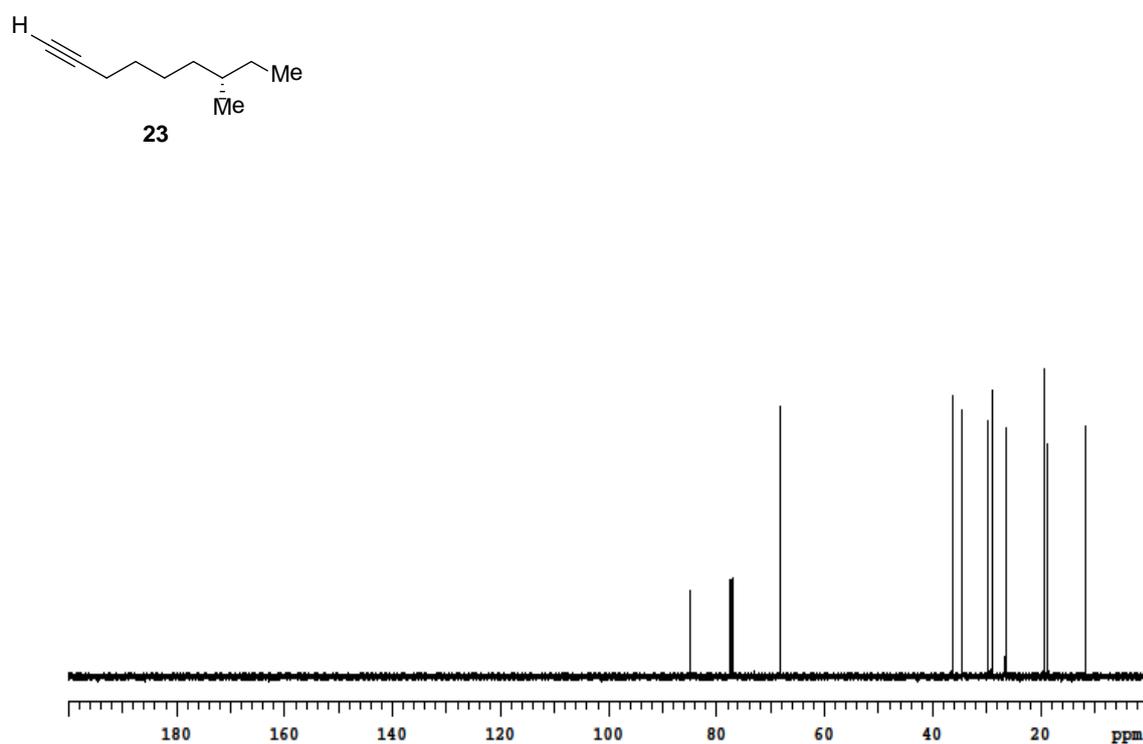


Figure 63. ¹³C NMR Spectra of (S)-7-methylnon-1-yne (**23**) in CDCl₃

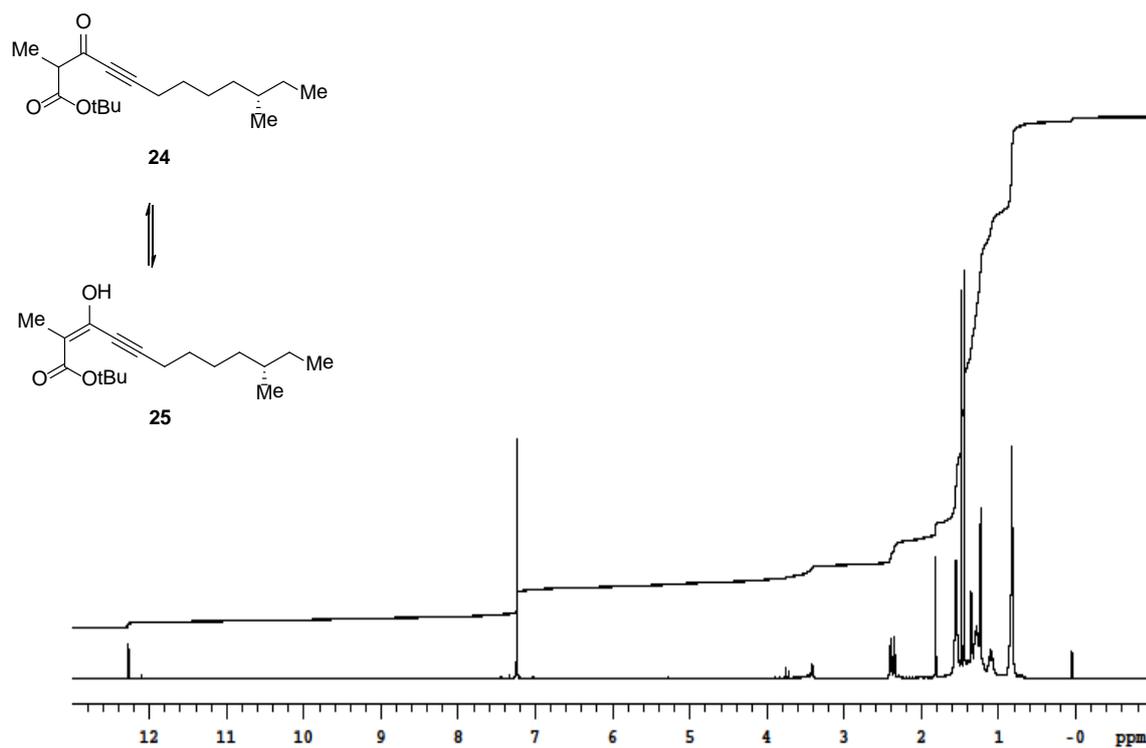


Figure 64. ^1H NMR Spectra of **24**, **25** in CDCl_3

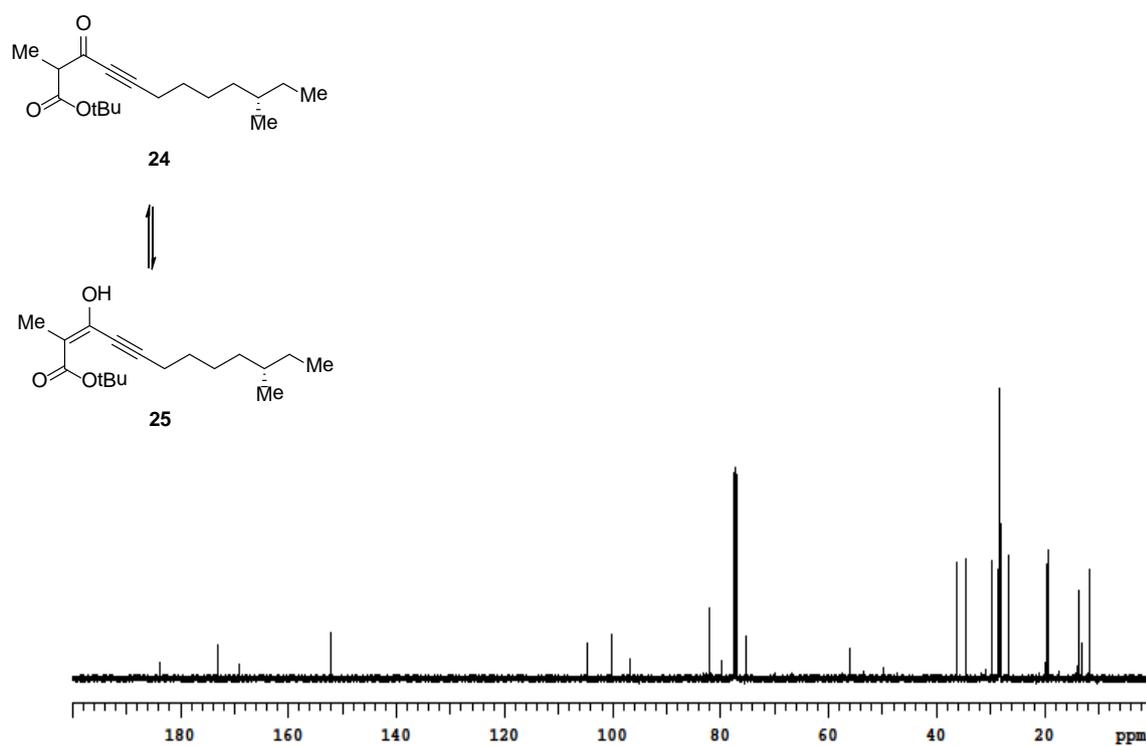


Figure 65. ^{13}C NMR Spectra of **24**, **25** in CDCl_3

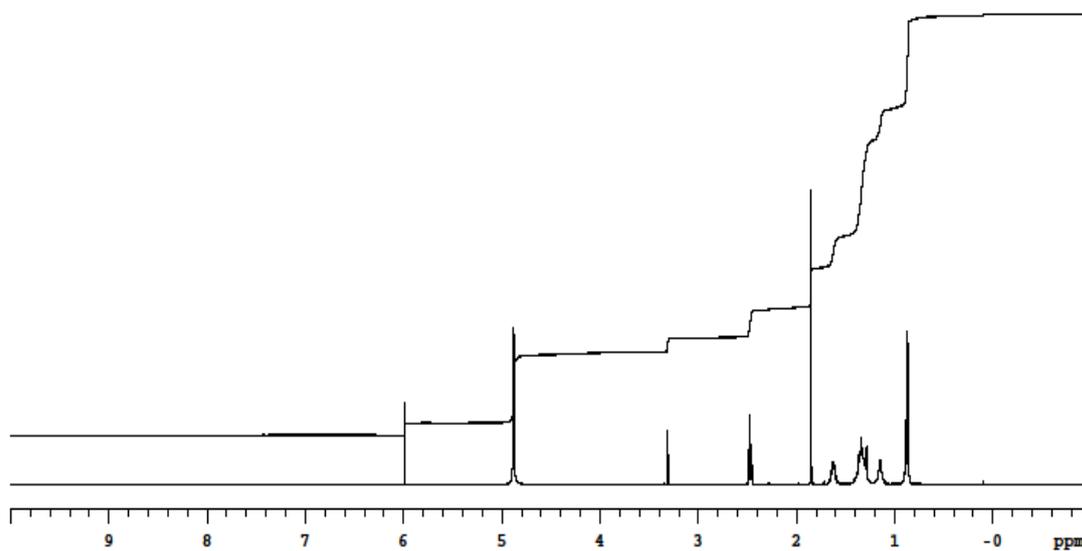
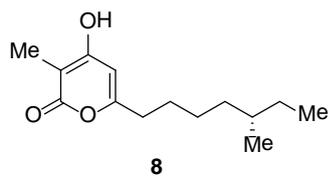


Figure 66. ^1H NMR Spectra of (+)-Violapyrone C (**8**) in CD_3OD

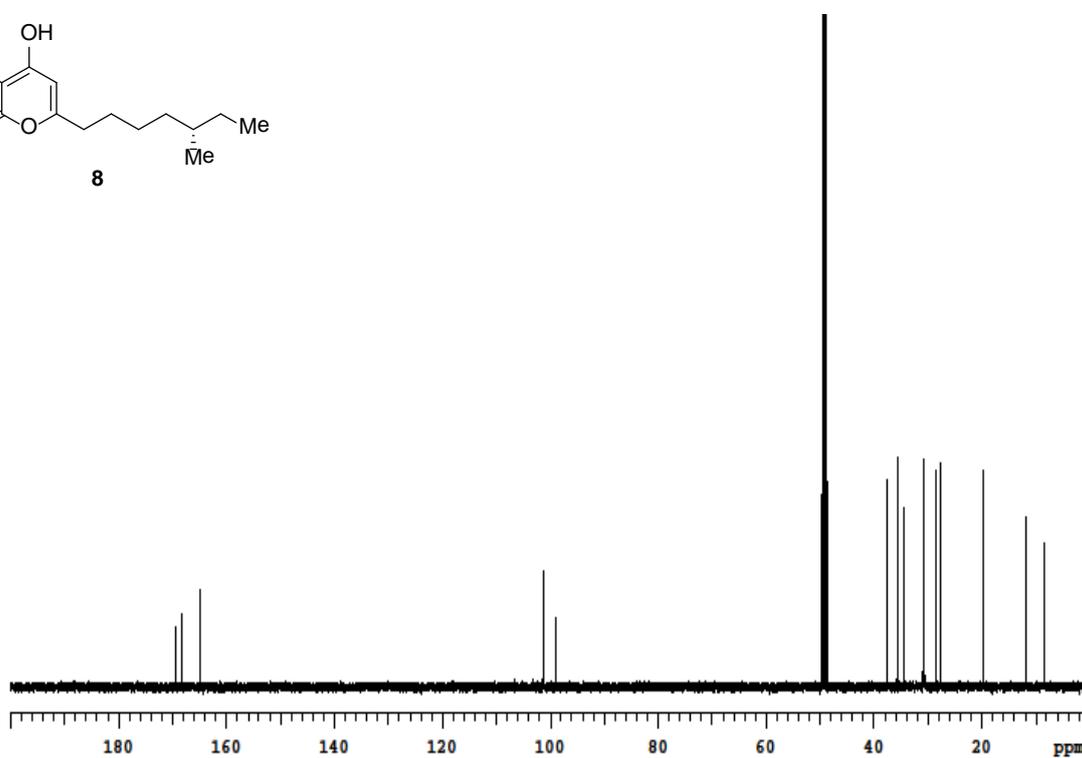
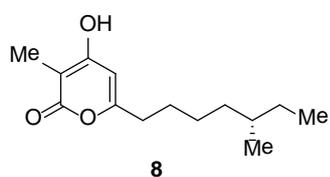


Figure 67. ^{13}C NMR Spectra of (+)-Violapyrone C (**8**) in CD_3OD

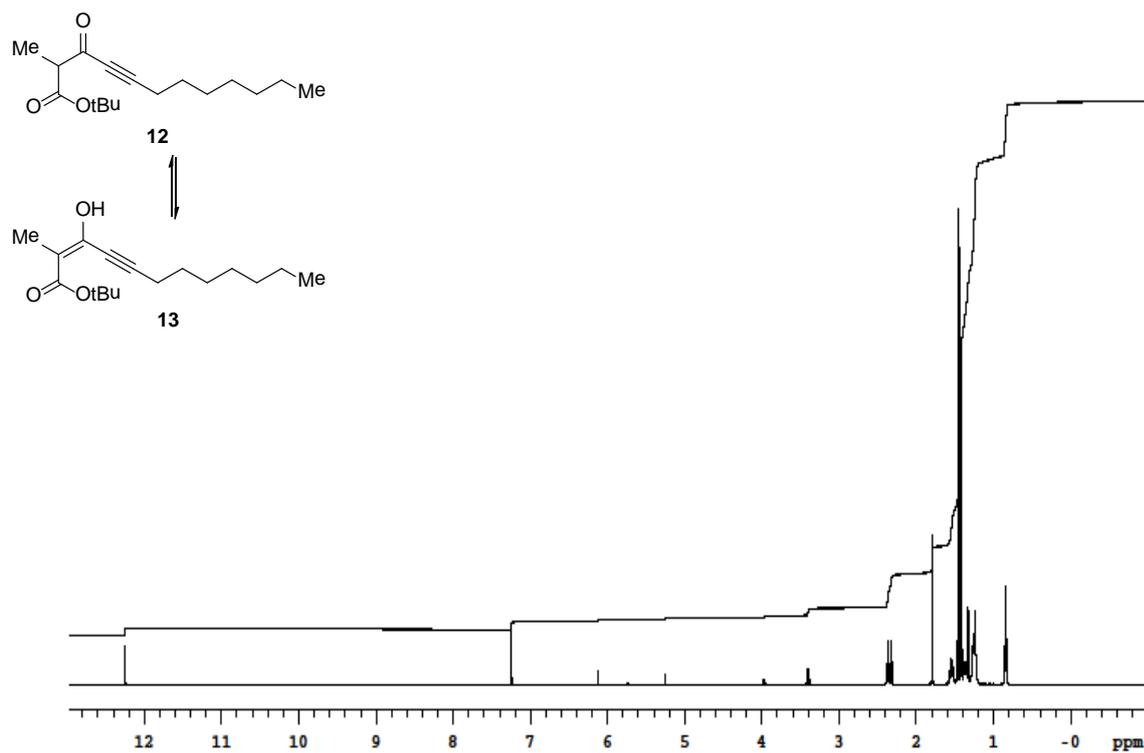


Figure 68. ^1H NMR Spectra of **12**, **13** in CDCl_3

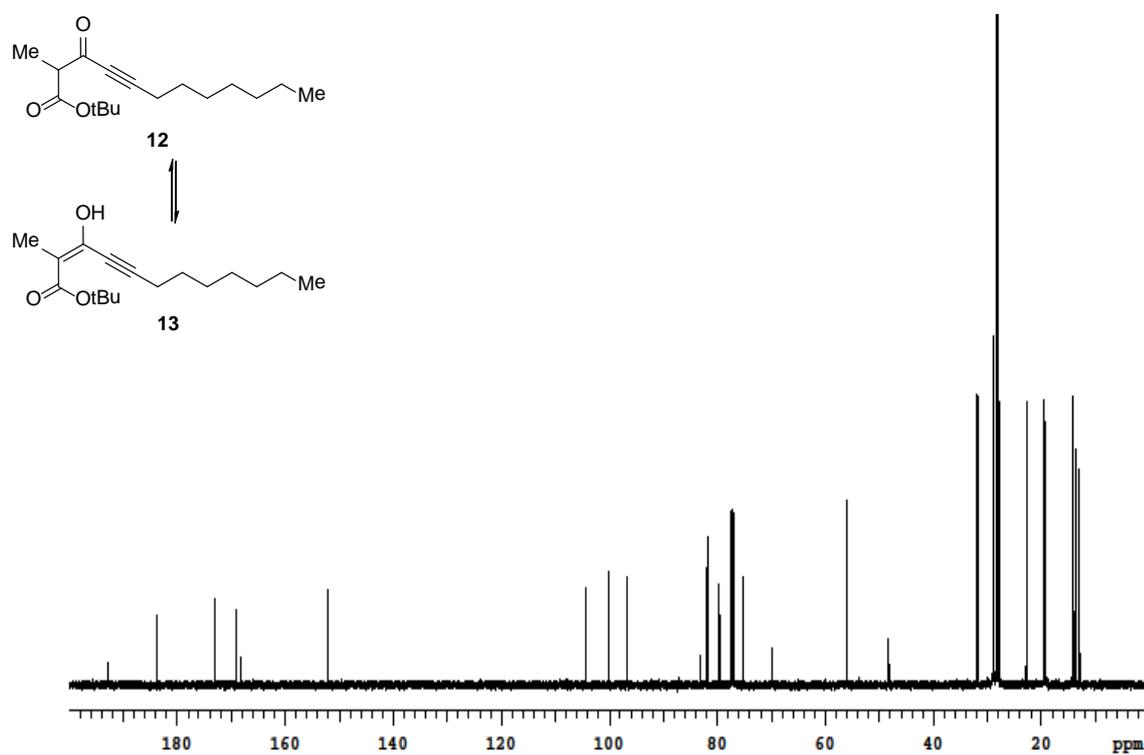


Figure 69. ^{13}C NMR Spectra of **12**, **13** in CDCl_3

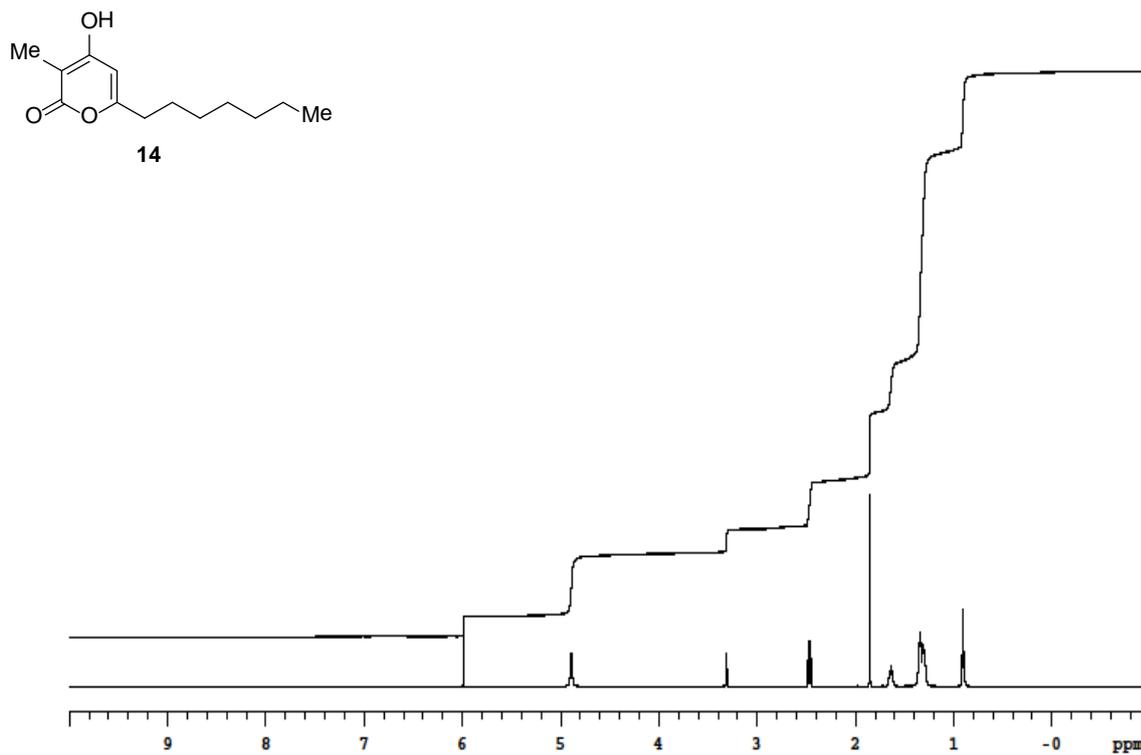


Figure 70. ¹H NMR Spectra of Violapyrone I (14) in CD₃OD

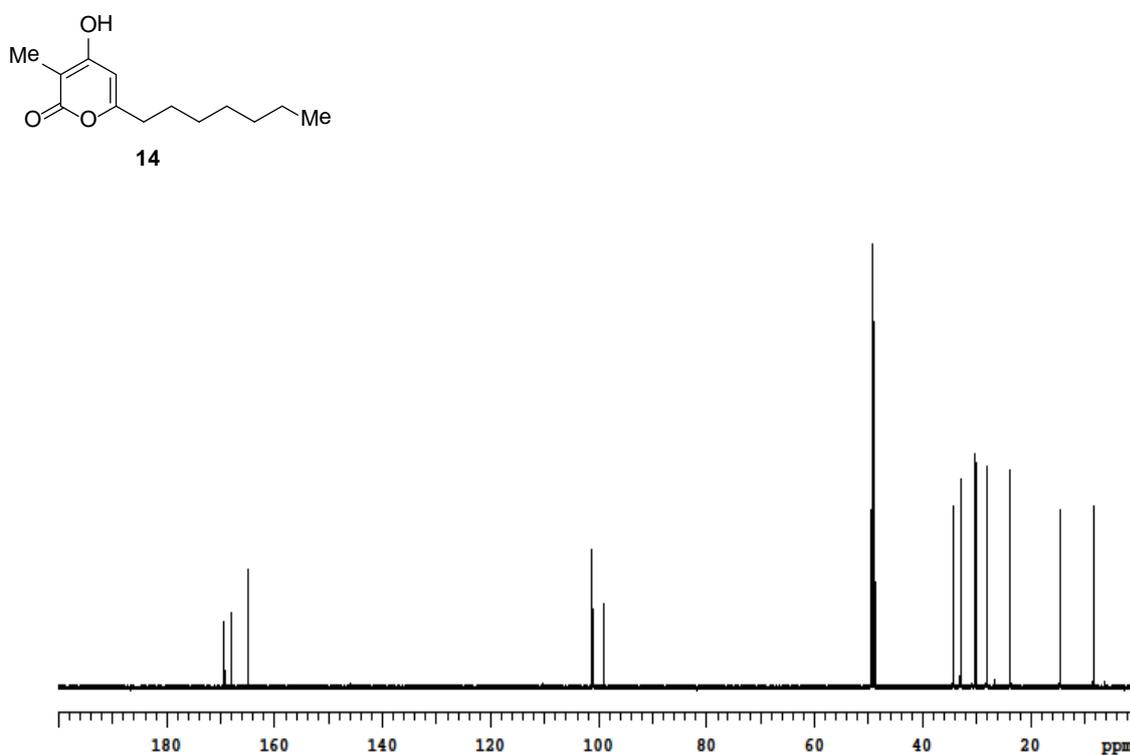


Figure 71. ¹³C NMR Spectra of Violapyrone I (14) in CD₃OD

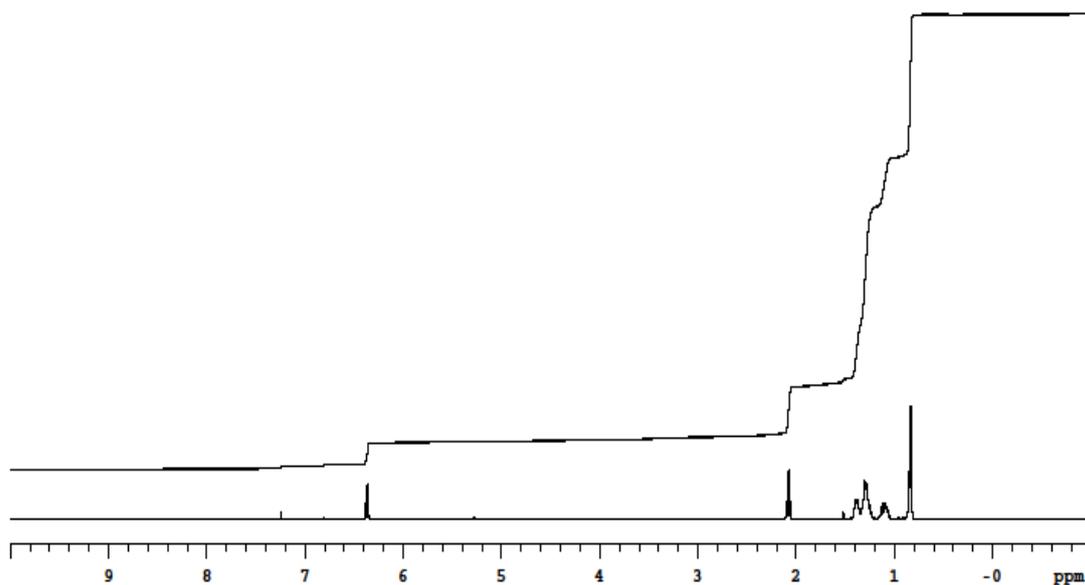
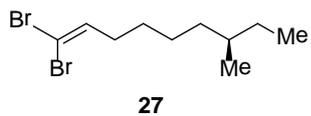


Figure 72. ^1H NMR Spectra of **27** in CDCl_3

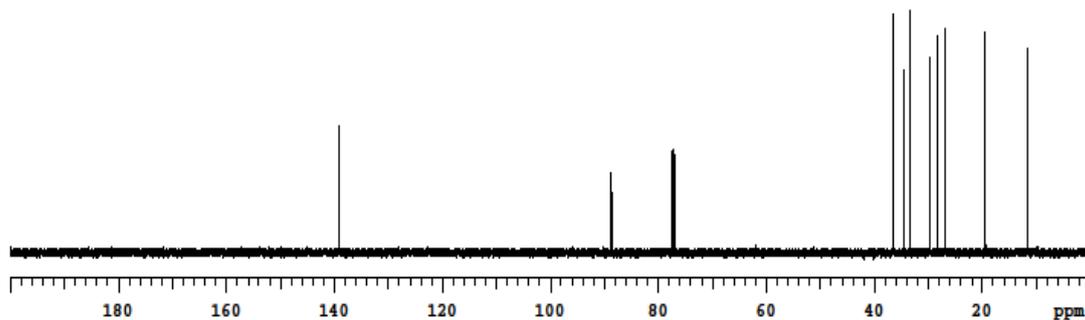
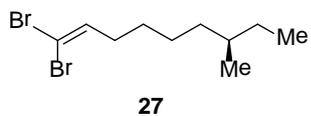


Figure 73. ^{13}C NMR Spectra of **27** in CDCl_3

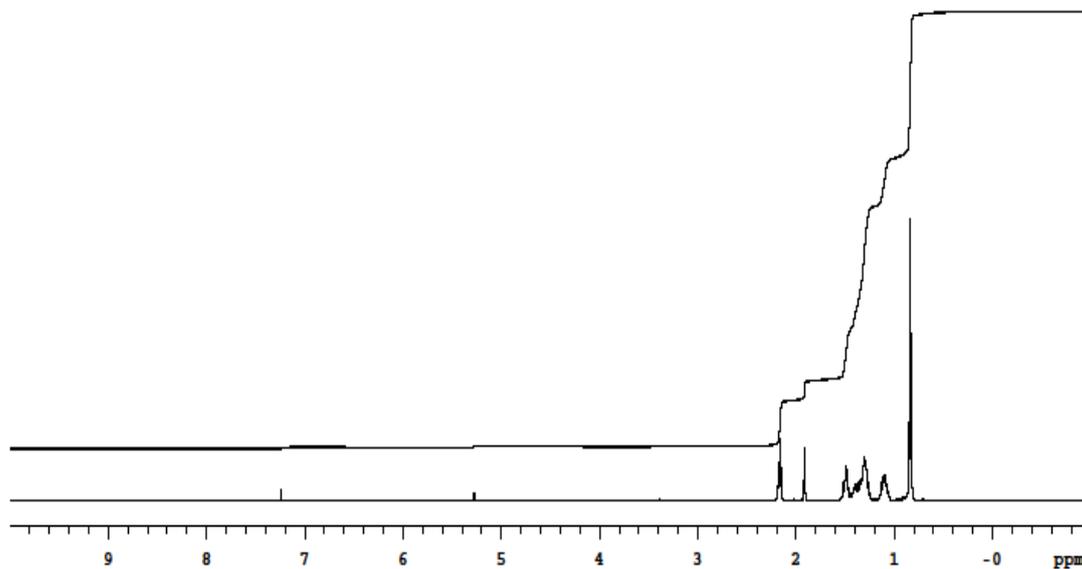
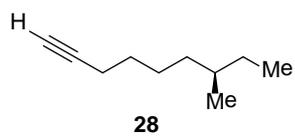


Figure 74. ^1H NMR Spectra of (R)-7-methylnon-1-yne (**28**) in CDCl_3

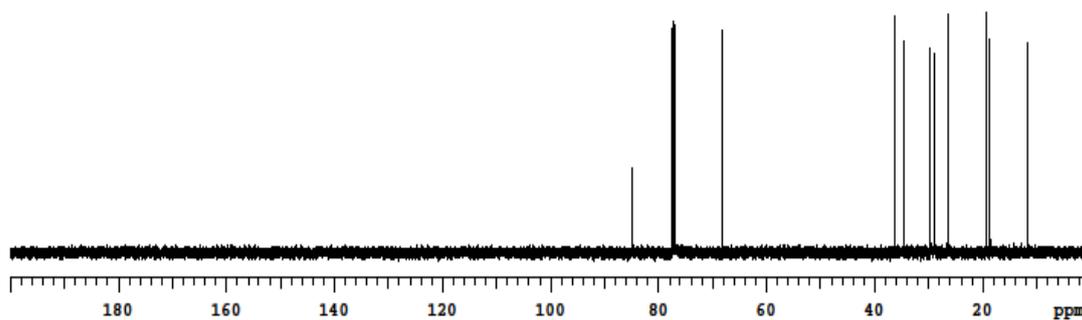
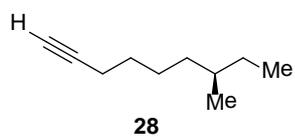


Figure 75. ^{13}C NMR Spectra of (R)-7-methylnon-1-yne (**28**) in CDCl_3

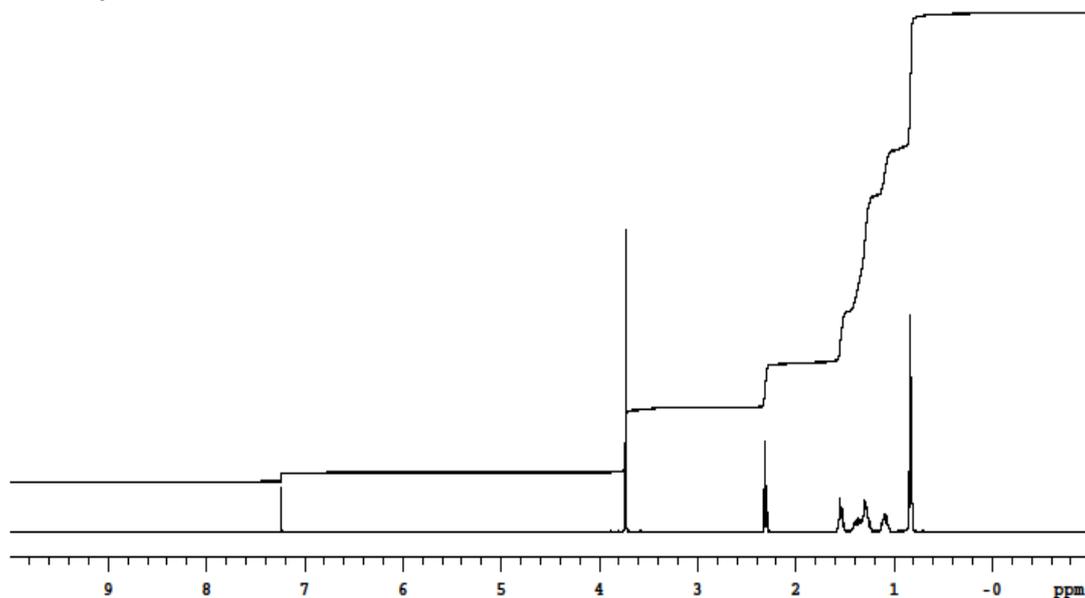
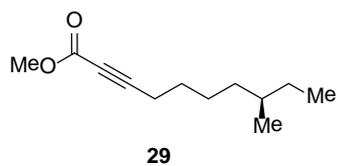


Figure 76. ^1H NMR Spectra of (R)-methyl 8-methyldec-2-ynoate (**29**) in CDCl_3

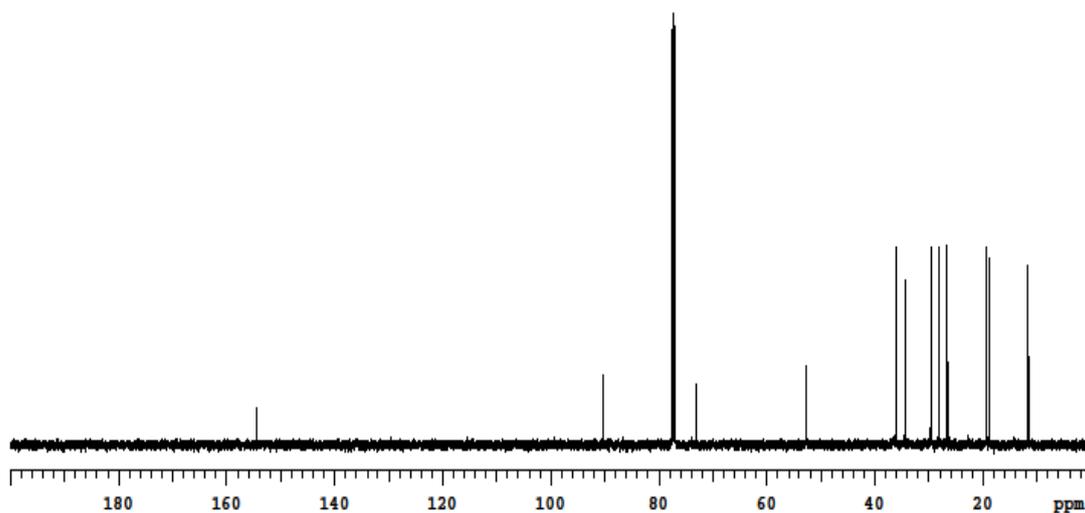
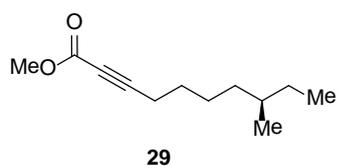


Figure 77. ^{13}C NMR Spectra of (R)-methyl 8-methyldec-2-ynoate (**29**) in CDCl_3

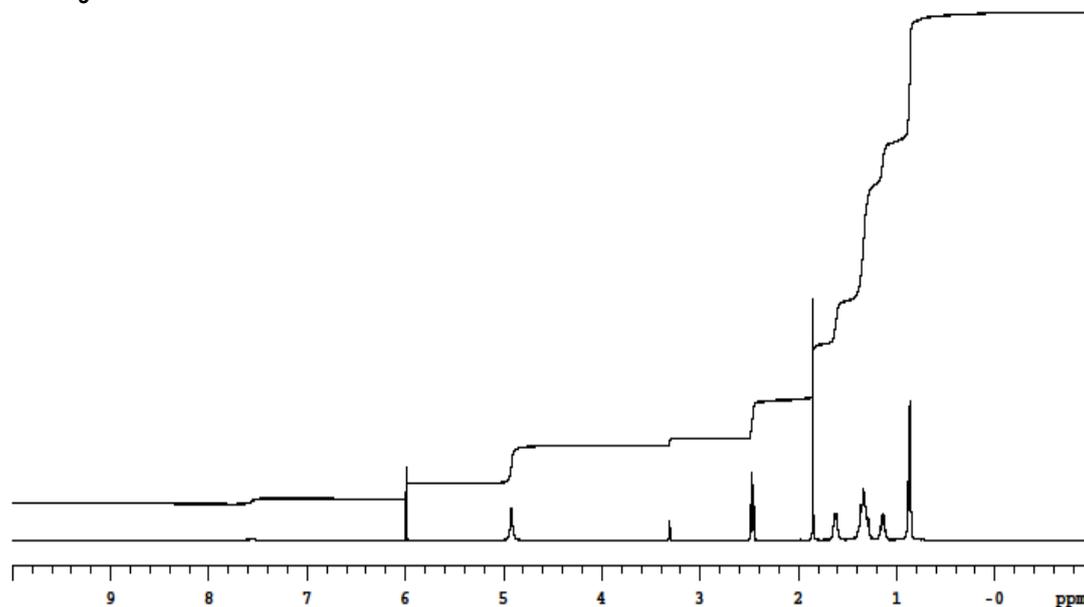
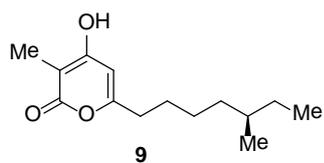


Figure 78. ^1H NMR Spectra of (-)-Violapyrone C (**9**) in CD_3OD

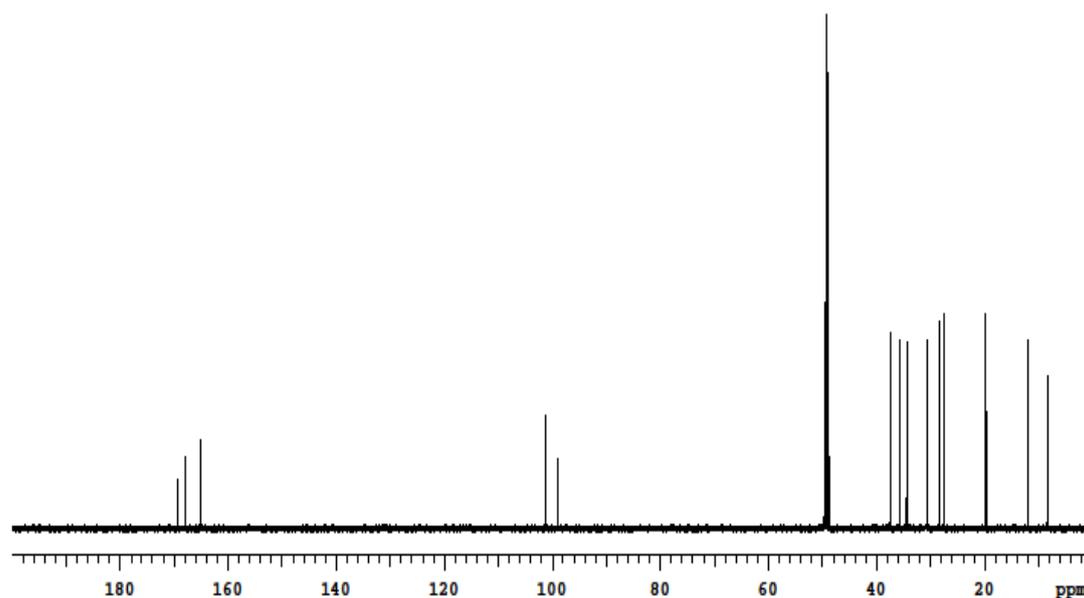
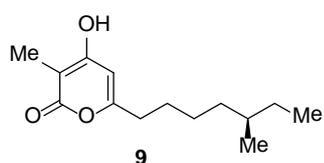


Figure 79. ^{13}C NMR Spectra of (-)-Violapyrone C (**9**) in CD_3OD

제 4 장 연구개발 목표 달성도 및 관련분야 기여도

과학기술의 발전과 이에 따른 산업고도화는 도시로의 인구집중, 식생활문화와 주거문화의 변화를 이끌었으며 의학기술의 눈부신 발달로 인해 인류의 평균수명은 지속적으로 연장되고 있다. 이러한 사회문화적인 전반적인 변화는 인류가 이제껏 경험해보지 못했던 암, 고혈압, 당뇨, 심장질환, 비만 등의 질병에 대한 높은 발병율을 야기하여 이들에 의한 사회적 부담이 점차적으로 가중되고 있다. 암 정복에 대한 인류 도전의 역사는 1971 년 미국의 닉슨 대통령이 ‘국가 암법’에 서명함으로써 암 정복 사업에 매년 수십억 달러의 예산을 지원하는 야심 찬 국가적 사업으로 시작하였지만 40 년이 지난 현재에도 미국의 과학자들은 아직 암에 대해 알아야 할 것이 너무 많다고 말하고 있으며 아직 암은 인류가 정복하지 못한 질병 중 하나로 남아있다.

본 연구에서는 해양미생물 유래 천연물 중 항암 활성을 갖고 있는 streptochlorin, violapyrone 등 두 종류의 천연물에 대한 정밀화학 기술을 이용한 효율적 합성법을 정립하고, 이를 바탕으로 입체화학구조를 규명하며, 확보된 다양한 유도체에 대한 항암 생리활성 측정을 통해 개선된 활성을 갖는 신규물질들을 도출하는 것을 연구목표로 하였다.

2012 년 1 차년도 연구에서는 강원도 고성군 아야진항 인근 수심 1m 깊이의 퇴적층에서 분리된 *Streptomyces* 속에 속하는 04DH110 라고 명명된 변종 박테리아의 배양액에서 추출되어 2007 년도에 학계에 보고된 해양천연물 streptochlorin 의 ‘van Leusen 옥사졸 합성법’과 ‘Robinson-Gabriel cyclodehydration 반응’을 이용한 합성법을 정립하였다. 이를 통해 총 25 개의 streptochlorin 유도체를 높은 수율로 합성하였으며 이들에 대한 항암활성을 측정하여 기초적인 구조-활성 관계연구를 수행한 결과 인돌 고리에 각각 C5 hydroxyl group, C2 chloro, phenyl 등의 치환기와 옥사졸고리 C2'에 phenyl 기가 도입되었을 때 항암활성이 눈에 띄게 개선됨을 볼 수 있었다. 특히 인돌고리 2 번 탄소에 phenyl 기가 도입되었을 때 streptochlorin 에 비해 7 배 이상 항암활성이 개선된다는 사실이 밝혀졌다. 1 차년도 평가결과에 따라 추가적으로 지원된 2 차년도에는 마이크로네시아 축주에서 채집된 가시면류관 불가사리 (crown-of-thorns starfish)의 *streptomyces* 계열 공생세균 배양액에서 분리 정제된 항암활성을 보이는 해양천연물 violapyrone 에 대한 전합성연구를 성공적으로 수행하여 (+)-violapyrone C 의 11 번 탄소 입체화학구조(stereochemistry)를 규명하였으며 개발된 합성경로를 이용한 광학이성질체 (-)-violapyrone C 와 violapyrone I 의 합성을 완료하였다. 특히 연구수행 중 새롭게 개발된 금-촉매를 이용한 2-pyrone 의 효율적 합성법은 앞으로 2-pyrone 을 포함하고 있는 천연물이나 의약화학물질을 수월하게 확보하는데 있어 중요한 합성

방법론으로 활용될 수 있다. 2 차년도까지의 연구성과를 종합해 볼 때 계획서 상에 제시된 연구목표를 무난하게 달성한 것으로 평가하고 있으며 본 연구의 결과물들은 향후 해양천연물 기반 항암소재개발을 위한 후속연구에 중요한 기초자료로 활용될 수 있을 것이다.

본 연구과제의 연구결과를 기초로 2 편의 전문학술지 게재를 완료하였으며 streptochlorin 과 관련된 특허 1 건을 출원하였다.

논문

1. A Concise and Rapid Approach to the Marine Natural Product Streptochlorin and its Analogs (*Bull. Kor. Chem. Soc.* **2012**, *34*, 357)
2. Total Synthesis and Configurational Validation of (+)-Violapyrone C (*Eur. J. Org. Chem.* **2014**, *2014*, 4472)

특허

기술명: 신규한 스트렙토클로린 유도체 및 이를 유효성분으로 하는 암 질환의 예방 및 치료용 약학조성물 (출원번호: 10-2012-0114008)

제 5 장 연구개발결과의 활용계획

최근 대형 다국적 제약회사들이 실패 시 엄청난 경영적 부담을 야기할 수 있는 신약개발연구의 초기단계부터 참여하기 보다는 학교, 연구소에서 초기 기초연구를 수행하고 이를 통해 활성이 검증된 선도물질을 도출하면 이 후 개발자금이 많이 들어가는 임상실험 등의 후기 개발단계에 참여하는 신약개발연구 추세를 따르고 있다. 따라서 본 연구를 통해 도출된 25 종의 streptochlorin 유도체와 violapyrone 은 천연물신약에 관심을 갖고 있는 제약회사 또는 학교의 신약연구센터 등과 공동으로 전임상 이전의 초기 신약연구개발을 진행할 수 있으며, 이는 한국해양연구원이 해양천연물연구 분야에 있어서 선도적 위치를 선점하는데 큰 역할을 할 것으로 기대된다. 또한 본 연구를 통해 획득된 streptochlorin 에 대한 구조-활성 관계는 향후 streptochlorin 의 단백질표적을 밝혀내는 후속연구에서 중요한 자료로 사용될 수 있다. 금-촉매를 이용한 2-pyrone 의 효율적 합성법은 2-pyrone 골격을 갖는 천연물 유도체와 의약화학 소재에 대한 정밀화학적 접근을 수월하게 하여 앞으로 유기화학, 의약화학, 천연물화학, 화학생물학, 생유기화학 등 관련 연구분야에 많은 기여를 할 수 있을 것으로 기대하고 있다.

제 6 장 참고문헌

- Molinski, T. F.; Dalisay, D. S.; Lievens, S. L.; Saludes, J. P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2009**, *8*, 69.
- Watanabe, H.; Amano, S.; Yoshida, J.; Takase, Y.; Miyadoh, S.; Sasaki, T.; Hatsu, M.; Takeuchi, Y.; Komada, Y. *Meiji Seika Kenkyu Nenpo* **1988**, *27*, 55.
- Shin, H. J.; Jeong, H. S.; Lee, H.-S.; Park, S.-K.; Kim, H. M.; Kwon, H. J. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2007**, *17*, 1403.
- Lindquist, N.; Fenical, W.; Van Duyne, G. D.; Clardy, J. *J. Am. Chem. Soc.* **1991**, *113*, 2303.
- Park, C.; Shin, H. J.; Kim, G.-Y.; Kwon, T. K.; Nam, T.-J.; Kim, S.-K.; Cheong, J.; Choi, I.-W.; Choi, Y. H. *Toxicology in Vitro* **2008**, *22*, 1573.
- Shin, D. Y.; Shin, H. J.; Kim, G.-Y.; Cheong, J. H.; Choi, I.-W.; Kim, S.-K.; Moon, S.-K.; Kang, H. S.; Choi, Y. H. *J. Microbiol. Biotechnol.* **2008**, *18*, 1862.
- Kroiss, J.; Kaltenpoth, M.; Schneider, B.; Schwinger, M.-G.; Hertweck, C.; Maddula, R. K.; Strohm, E.; Svatos, A. *Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 261.
- Camp, J. E.; Craig, D.; Funai, K.; White, A. P. *Org. Biomol. Chem.* **2011**, *9*, 7904.
- van Leusen, A. M.; Hoogenboom, B. E.; Siderius, H. *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 2369.
- Zhang, M.-Z.; Chen, Q.; Mulholland, N.; Beattie, D.; Irwin, D.; Gu, Y.-C.; Yang, G.-F.; Clough, J. *Eur. J. Med. Chem.* **2012**, *53*, 283.
- Wipf, P.; Miller, C. P. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 3604.
- Nicolaou, K. C.; Snyder, S. A.; Huang, X.; Simonsen, K. B.; Koumbis, A. E.; Bigot, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10162.
- Espinoza-Moraga, M.; Santos, L. S.; Gaube, F.; Winckler, T.; Caballero, J. *Chem. Biol. Drug Des.* **2012**, *79*, 594.
- Boto, A.; Ling, M.; Meek, G.; Pattenden, G. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 8167.
- J. Zhang, Y. Jiang, Y. Cao, J. Liu, D. Zheng, X. Chen, L. Han, C. Jiang, X. Huang, *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 2126-2130.
- H. J. Shin, H.-S. Lee, J. S. Lee, J. Shin, M. A. Lee, H.-S. Lee, Y.-J. Lee, J. Yun, J. S. Kang, *Mar. Drugs* **2014**, in press.

- W. Chaładaj, M. Cobet, A. Fuerstner, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 6929–6933.
- F. Bellina, D. Ciucci, R. Rossi, P. Vergamini, *Tetrahedron* **2000**, *56*, 2533–2545.
- B. Legouin, E. Marchal, P. Uriac, P. Weghe, L. Toupet, P. Weghe, *Tetrahedron* **2007**, *63*, 9979–9990.
- R. C. Larock, L. W. Harrison, *J. Am. Chem. Soc.* **1984**, *106*, 4218–4227.
- T. Honda, H. Morita, M. Rudyanto, Y. Tomizawa, *Org. Lett.* **2008**, *10*, 1921–1922.
- J.–H. Li, Y. Liang, Y.–X. Xie, *Synthesis* **2007**, *3*, 400–406.
- T. Honda, K. Kobayashi, M. Rudyanto, *Heterocycles* **2009**, *79*, 753–764.
- B. Godoi, S. Pinton, A. Speranca, G. Zeni, D. F. Back, P. H. Menezes, *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 6789–6797.
- M. Ackermann, J. De Buck Becker, R. Doepp, A. S. K. Hashmi, C. Lothschuetz, F. Rominger, M. Rudolph, C. Scholz, *Adv. Synth. Catal.* **2012**, *354*, 133–147.
- T. Sakamoto, A.–N. Masayuki, Y.; S. Kondo, H. Yamanaka, *Chem. Pharm. Bull.* **1986**, *34*, 2754–2759.
- H. Seo, M. E. Jun, K. H. Ahn, O. A. Egorova, K.–H. Lee, K.–T. Kim, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 5062–5065.
- P. Fiedler, A. Kollarovic, D. Saman, I. G. Stara, I. Stary, F. Teply, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 11209–11234.
- F. Bellina, R. Rossi, L. Mannina, *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3017–3020.
- I. Wetzel, F. Bracher, J. Z. Krauss, *Naturforsch.* **2009**, *64b*, 313–318.
- M. Alami, J.–D. Brion, A. Hamze, G. Le Bras, P.–B. Le Calvez, S. Messaoudi, O. Provot, *Synthesis* **2008**, *10*, 1607–1611.
- W. Ajana, M. Alvarez, L. Feliu, J. A. Joule, *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4405–4412.
- D. J. Burton, Y. Wang, *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 3859–3862.
- A. Knuhtsen, B. Y.–W. Man, B. A. Messerle, M. J. Page, *Polyhedron* **2013**, *61*, 248–252.
- I. D. Ivanchikova, G. E. Usubalieva, P. V. Schastnev, A. A. Moroz, M. S. Shvartsberg, *Bull. Russ. Acad. Sci. Div. Chem. Sci. (Engl. Transl.)* **1992**, *41*, 1672–1679.

- P. T. Perumal, C. Praveen, A. Ayyanar, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2011**, *21*, 4170–4173.
- Z. Li, C. Brouwer, C. He, *Chem. Rev.* **2008**, *108*, 3239–3265.
- A. Corma, A. Leyva–Pérez, M. J. Sabater, *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1657–1712.
- M. Rudolph, A. Hashmi, K. Stephen, *Chem. Soc. Rev.* **2012**, *41*, 2448–2462. (d)
- S. F. Kirsch, *Synthesis* **2008**, 3183.
- T. de Haro, C. Nevado, *Synthesis* **2011**, 2530.
- T. Luo, S. L. Schreiber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 8250–8253.
- T. Luo, M. Dai, S.-L. Zheng, S. L. Schreiber, *Org. Lett.* **2011**, *13*, 2834–2836.
- D. Noutsias, G. Vassilikogiannakis, *Org. Lett.* **2012**, *14*, 3565–3567.
- Z. Yang, X. Jin, M. Guaciaro, B. F. Molino, *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 3191–3196.
- A. Bouzide, G. Sauve, *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 5945–5948.
- J. S. Lee, P. L. Fuchs, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 13122–13123.
- E. J. Corey, P. L. Fuchs, *Tetrahedron Lett.* **1972**, *13*, 3769–3772.
- N. G. Angelo, P. S. Arora, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 17134–17135.
- E. M. Ferreira, D. A. Rooke, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2012**, *51*, 3225–3230.
- R. C. Livingston, B. M. Trost, *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 11970–11978.

주 의

1. 이 보고서는 한국해양과학기술원에서 수행한 주요사업의 연구결과보고서입니다.
2. 이 보고서 내용을 발표할 때에는 반드시 한국해양과학기술원에서 수행한 주요사업의 연구결과임을 밝혀야 합니다.
3. 국가과학기술 기밀유지에 필요한 내용은 대외적으로 발표 또는 공개하여서는 안됩니다.