

## Chalcone 유도체의 Farnesyl Protein Transferase 저해활성

성낙도\* · 유성재 · 명평근<sup>1</sup> · 권병목<sup>2</sup> · 이승호<sup>2</sup>

충남대학교 농과대학 응용생물화학부, <sup>1</sup>충남대학교 약학부

<sup>2</sup>생명공학 연구소 단백질 조절 연구부

**초 록** : Chalcone 유도체들을 합성하고 farnesyl protein transferase(FPTase) 저해활성을 측정하여, 기질분자의 치환기 변화에 따른 구조와 활성과의 관계(SAR)를 Free-Wilson법과 Hansch법으로 검토하였다. Benzoyl group 중 X-치환기가 styryl group 중 Y-치환기보다 활성에 더욱 큰 영향을 미쳤으며 meta- > ortho-, para-치환기의 순으로 활성을 나타내었다. 또한, X 및 Y-치환기의 소수성이 적정값( $\Delta \log P_{opt} = 3.915$ )에 근접할수록 활성이 증가하였으며, X-치환기의 입체효과와( $E_s > 0$ ) 전자밀게 Y-치환기에 의한 공명효과( $R < 0$ )가 활성에 미치는 중요한 요소로 인식되었다. 다루어진 화합물중에서 비 치환체, 8은 가장 높은 FPTase저해활성( $pI_{50} = 4.30$ )을 나타내었다. 그리고 기질-수용체간의 상호작용을 가정하여 제안하였다. (1999년 3월 9일 접수, 1999년 5월 24일 수리)

### 서 론

비스 방향족  $\alpha, \beta$ -불포화 케톤 유도체들이 식물성 병원균(곰팡이)에 대한 항균활성<sup>1,2)</sup>과 항 종양제<sup>3)</sup>로의 유용성에 관한 연구 결과가 보고된 바 있었다. 또한, cinnamaldehyde 유도체 중 ortho-치환체가 유의할 만한 수준으로 FPTase 저해활성이 있다고 알려졌다.<sup>4)</sup> 뿐만 아니라, 헤테로 고리 치환된 chalcone 유도체들의 FPTase 저해활성에 관한 연구(성 등, (1999) 헤테로 고리 치환 chalcone 유도체의 FPTase 저해활성, 한국농화학회지 42, 투고 중)에 따르면 헤테로 고리에 무관하게 같은 경향으로 활성을 발현할 뿐만 아니라, 비 치환체가 가장 높은 활성을 나타내었다.

본 연구에서는 chalcone 유도체들에서 benzoyl group 중의 X-치환기와 styryl group 중 Y-치환기가 변화됨에 따른 구조와 FPTase 저해활성 관계(SAR)를 Free-Wilson 방법<sup>5)</sup>과 Hansch 방법<sup>6)</sup>으로 검토하였다.

### 재료 및 방법

#### FPTase의 저해활성 검정 및 SAR식

앞서의 보고<sup>2)</sup>에서 다른 화합물을 기질물질로 하였으며 일부는 문헌<sup>7)</sup>에 따라 합성하였다. 그리고 FPTase저해 활성 검정은 알려진 방법<sup>4)</sup>으로 활성( $pI_{50}$ )을 측정하였다.

치환기들이 활성에 미치는 각각의 기여도를 검토하기 위한 Free-Wilson 분석(SAS, Ver. 6.12)을 실시하고 다양한 물리-화학적 파라미터들을 QSAR 프로그램<sup>8)</sup>에 적용하여 SAR식을 유도<sup>9)</sup>하고 관련된 통계값들을 얻었다.

### 결과 및 고찰

#### 구조와 반응성

찾는말 : chalcones, QSAR, FPTase inhibition activity, Free-Wilson & Hansch analysis

\*연락처자

치환(Y) styryl기( $\sigma_p = -0.07$ , trans)와 치환(X) benzoyl기( $\sigma^p = 0.43$ )가 결합된 기질 물질에서 X 및 Y-치환기가 변화함에 따라  $\alpha, \beta$ -불포화 이중결합의 탄소원자에 미치는 화학적 자리움김( $^{13}C$ )을 검토한 바,  $\beta$ 탄소에는 비슷한 경향이었으나 carbonyl기 인접  $\alpha$ 탄소에 미치는 영향은 서로 반대의 경향으로 즉, X-치환기는 큰 반면에 Y-치환기는 작은 영향( $\delta C_{\alpha} = X > Y$ )을 미치는 치환기 효과<sup>9)</sup>를 나타내었다. 따라서 X-치환체의 경우에  $\alpha$ 탄소에는 유도효과 그리고  $\beta$ 탄소에는 공명효과가 영향을 미치며 Y-치환체의 경우에는 서로 반대의 효과가 영향을 미치게 된다.  $\alpha$ 탄소에 공명효과가 감소하고 유도효과가 증가하는 이유는 phenyl기내 공명 상호작용으로 증가된 편재화(localized)가 공존함으로써 carbonyl기가 쿨슨계이전을 부분적으로 가로막는 역할 때문으로 설명된다.

기질 화합물들의 소수성( $\log P$ )의 범위는 3.10 ~ 6.21로 농업용 약제로써 적정범위(제초제:1.5 ~ 5.0, 항균제:1.5 ~ 4.5)<sup>10)</sup> 보다는 높은값을 나타내었다.

#### 구조-활성관계(SAR)

기질 유도체의 FPTase에 대한 저해활성의 관계를 알아보기 위하여 각 치환기들의 기여도를 Free-Wilson 방법으로 검토하였다. 우선, 비 치환(H)체인 **8**을 모체로 하고 유도체들의 치환 위치가 para 위치에 편중되어 있다는 점을 감안하여 치환기의 도입에 따른 활성의 기여도를 나타내는 Free-Wilson matrix를 Table 1과 같이 작성하고 FPTase 저해활성에 치환기들의 기여도를 설명(90%, 100 $r^2$ )하는 (1)식( $r = 0.944$ )을 유도하였다.

(1)식에서 2개의 phenyl group에 치환된 X 및 Y-치환기들의 계수가 공통적으로 음(-)의 값을 나타내므로 치환기 도입에 따른 FPTase 저해활성은 기여효과가 적은 것을 알 수 있다. 또한, Y-phenyl( $I_Y > 0$ )보다 X-phenyl group( $I_X < 0$ )에 대한 기여도가 다소 컸으며 치환된 위치에 따른 기여효과는 meta-위치( $I_m = 0.335$ )가 ortho-위치( $I_o = 0.246$ )와 para-위치( $I_p = 0$ )보다 높은 기여(meta- > ortho-, para-)를 보이고 있다.

Table. 1 Structural matrix used for Free-Wilson analysis

No.	Substituents		A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
	X	Y																	
1	H	4-CN	1																1
2	H	4-Cl		1															1
3	H	4-NO <sub>2</sub>			1														1
4	H	4-Br				1													1
5	H	3-NO <sub>2</sub>			1														1
6	H	4-OCH <sub>3</sub>					1												1
7	H	4-CH <sub>3</sub>						1											1
8	H	H																	
9	H	4-OCH <sub>2</sub> ph							1										1
10	H	4-F								1									1
11	H	F <sub>5</sub>									5								1
12	H	2-OCH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>										1							1
13	H	2-OH											1						1
14	H	4-OCH <sub>2</sub> OCH <sub>3</sub>											1						1
15	H	4-OH												1					1
16	4-CH <sub>3</sub>	H						1											1
17	4-OCH <sub>3</sub>	H					1												1
18	4-NO <sub>2</sub>	H			1														1
19	4-Cl	H		1															1
20	4-OH	H											1						1
21	4-Br	H				1													1
22	4-F	H								1									1
23	4-C <sub>2</sub> H <sub>5</sub>	H												1					1
24	2,4-Cl <sub>2</sub>	H		2															1
25	2,4(OCH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H					2												1
26	2,4-(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	H						2											1
27	4-CF <sub>3</sub>	H											1						1
28	4-CN	H	1																1
29	4-Oph	H													1				1

<sup>a</sup>(X)phC(=O)CH=CHph(Y), A: CN, B: Cl, C: NO<sub>2</sub>, D: Br, E: OCH<sub>3</sub>, F: CH<sub>3</sub>, G: OCH<sub>2</sub>ph, H: F, I: OCH<sub>2</sub>OCH<sub>3</sub>, J: OH, K: CF<sub>3</sub>, L: C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>, M: Oph, N: ph(X), O: ph(Y), P: Io, Q: I<sub>m</sub>.

$$\begin{aligned}
 pI_{50} = & -0.544(\pm 0.270)[CN] - 0.699(\pm 0.220)[Cl] \\
 & - 0.875(\pm 0.293)[NO_2] - 0.819(\pm 0.270)[Br] \\
 & - 0.216(\pm 0.220)[OCH_3] - 0.672(\pm 0.220)[CH_3] \\
 & - 0.582(\pm 0.306)[OCH_2Ph] - 0.360(\pm 0.174)[F] \\
 & - 0.555(\pm 0.328)[OCH_2OCH_3] - 0.532(\pm 0.295)[OH] \\
 & - 1.307(\pm 0.323)[CF_3] - 1.047(\pm 0.323)[C_2H_5] \\
 & - 1.387(\pm 0.323)[OPh] + 0.137(\pm 0.323)[IX] \\
 & - 0.478(\pm 0.306)[IY] + 0.246(\pm 0.191)[I_0] \\
 & + 0.335(\pm 0.252)[I_m] + 4.300(\pm 0.215) \quad (1) \\
 & (n=29, s=0.215, F=5.26, r=0.944 \text{ 및 } r^2=0.891)
 \end{aligned}$$

이상의 결과를 근거로 하여 여기에서는 다루지 않았던 다양한 치환기들을 X-phenyl group의 meta 위치에 도입시킨 유도체들에 대한 FPTase 저해활성과의 관계를 탐색하는 것이 요구된다.

한편, X 및 Y-치환체 별로 저해활성에 미치는 요인을 알아보기 위하여 물리-화학적 파라미터(Table 2)와 활성과의 관계를 나타낸 SAR식 ((X):  $pI_{50} = -0.851(\log P_X - 3.910)^2 + 0.228Es + 3.845$  ( $n=12, s=0.253, F=3.850, r=0.770$  및  $r^2=0.600$ ) 및

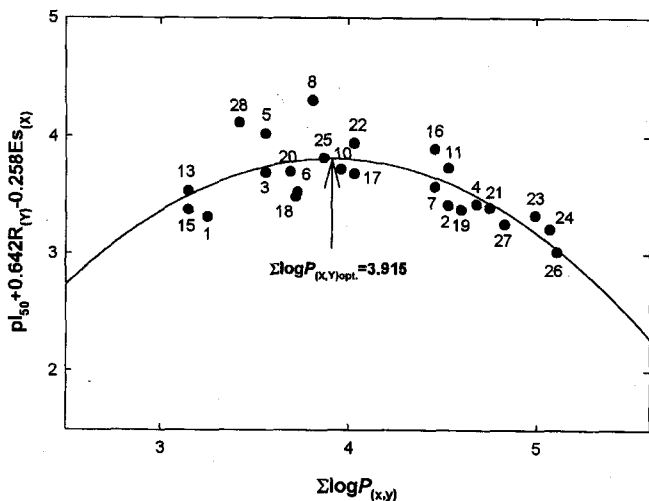
(Y):  $pI_{50} = -0.218(\log P_Y - 3.289)^2 - 0.643R + 3.890$  ( $n=13, s=0.212, F=13.300, r=0.903$  및  $r^2=0.816$ ))을 유도하였다. 이 식에 따르면 소수성 ( $\pi X = \log P_X - \log P_H$ )에 있어서 X-치환체 ( $\pi_X = ((\log P)_{opt} = 3.910) - (\log P_H = 3.810) = 0.10$ )가 Y-치환체 ( $\pi_Y = ((\log P)_{opt} = 3.289 - 3.810 = -0.521)$ )보다 약간 큰 소수성 ( $\log P = X > Y$ )이 요구되고 있다. 그리고 (1)식에서와 같은 경향으로 X 보다 Y-치환체에 의한 저해활성을 잘 설명( $r = X < Y$ )하고 있다.

이들 식을 하나의 식으로 나타낸 (2)식에 의하면 공통적으로 소수성( $\log P$ )의 적정값에 의존( $(\sum \log P)_{opt} = 3.915$ )적임을 설명(75%, 100 $r^2$ )하고 있으며 그 관계를 Fig. 1에 나타내었다. 특히,  $\log P$ 에 대한 2차식이 얻어짐에 따라 “ $\pi$ 효과”가 나타나고<sup>11)</sup>있으며 저해활성과  $\log P$ 값과의 사이에 포물선관계는 기질물질이 활성을 나타내기 위하여 임계지점에 도달하는데 있어서 lipoidal-aqueous 점층을 저해하는 것<sup>12)</sup>으로 설명된다.

$$\begin{aligned}
 pI_{50} = & -0.530(\sum \log P - 3.915)^2 + 0.258Es(X) - 0.642R(Y) + 3.800 \quad (2) \\
 & (0.062) \quad (0.187) \quad (2.550) \\
 & (n=25, s=0.230, F=14.994, r=0.865 \text{ 및 } r^2=0.750)
 \end{aligned}$$

Table 2. Physicochemical parameters of chalcone derivatives

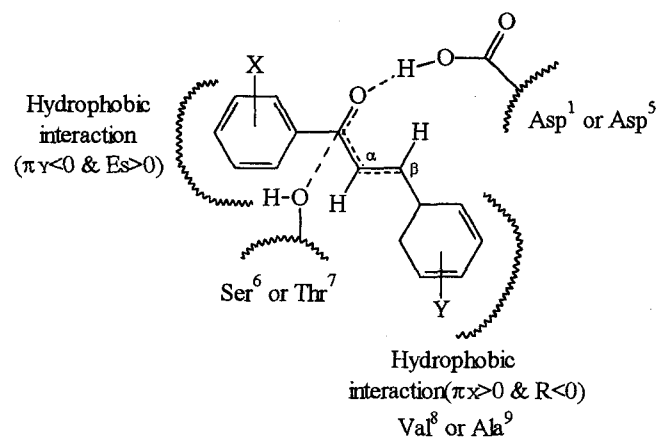
No.	$\Sigma \log P_{(X,Y)}^a$	$R_{(X)}^b$	$R_{(Y)}^b$	$Es_{(X)}^c$	$Es_{(Y)}^c$
1	3.25	0.19	0.00	-0.51	0.00
2	4.53	-0.15	0.00	-0.97	0.00
3	3.56	0.16	0.00	-2.52	0.00
4	4.68	-0.17	0.00	-1.16	0.00
5	3.56	0.16	0.00	-2.52	0.00
6	3.73	-0.51	0.00	-0.55	0.00
7	4.46	-0.13	0.00	-1.24	0.00
8	3.81	0.00	0.00	0.00	0.00
9	5.50	-	-	-	-
10	3.96	-0.34	0.00	-0.46	0.00
11	4.53	-0.17	0.00	-2.30	0.00
12	3.10	-	-	-	-
13	3.15	-0.64	0.00	-0.55	0.00
14	3.10	-	-	-	-
15	3.15	-0.64	0.00	-0.55	0.00
16	4.46	0.00	-0.13	0.00	-1.24
17	4.03	0.00	-0.51	0.00	-0.55
18	3.72	0.00	0.16	0.00	-2.52
19	4.60	0.00	-0.15	0.00	-0.97
20	3.69	0.00	-0.64	0.00	-0.55
21	4.75	0.00	-0.17	0.00	-1.16
22	4.03	0.00	-0.34	0.00	-0.46
23	4.99	0.00	-0.10	0.00	-1.31
24	5.07	0.00	-0.30	0.00	-1.94
25	3.87	0.00	-1.02	0.00	-1.10
26	5.11	0.00	-0.26	0.00	-2.48
27	4.83	0.00	0.19	0.00	-2.40
28	3.42	0.00	0.19	0.00	-0.51
29	6.21	0.00	-0.35	-	-

<sup>a</sup>Partition coefficients.<sup>b</sup>Resonance parameter.<sup>c</sup>Steric effect constant.Fig. 1. Plot of sum( $pI_{50} + 0.642R_{(Y)} - 0.258Es_{(X)}$ ) value vs sum  $\log P_{(X,Y)}$  against FPTase inhibition activity. (Eq. 2)

또한, X-치환기는 Taft의 입체효과( $Es$ )에 의존적<sup>13)</sup>으로 치환기가 작을수록( $Es > 0$ ) 기질과 수용체간의 입체적 상보성이 좋기 때문에 활성을 증가시킬 것이다. 또한, Y-치환기는 전자밀도에

Table 3. Calculated FPTase inhibition activity( $pI_{50}$ ) of chalcone derivatives<sup>a</sup> *in vitro* and observed melting points

No.	M.P.(°C)	Free-Wilson			Hansch	
		Obs.	Calc. <sup>b</sup>	Dev.	Calc. <sup>c</sup>	Dev.
1	146~148	3.18	3.28	-0.10	3.45	-0.27
2	104~108	3.16	3.12	0.04	3.37	-0.21
3	152~155	3.04	2.95	0.09	3.10	-0.06
4	110~112	3.12	3.00	0.12	3.22	-0.10
5	130~113	3.37	3.28	0.09	3.10	0.27
6	68~70	3.38	3.61	-0.23	3.63	-0.25
7	90~93	3.25	3.15	0.10	3.32	-0.07
8	50~52	4.30	4.30	0.00	3.78	0.52
9	110~112	3.24	3.24	0.00	-	-
10	82~84	3.60	3.46	0.14	3.69	-0.09
11	84~85	3.14	3.18	-0.04	3.02	0.12
12	40~41	3.57	3.51	0.06	-	-
13	148~149	3.39	3.54	-0.15	3.37	0.02
14	84~85	3.21	3.27	-0.06	-	-
15	182~183	3.23	3.29	-0.06	3.37	-0.14
16	48~50	3.98	3.76	0.22	3.72	0.26
17	98~100	4.01	4.22	-0.21	4.11	-0.10
18	146~148	3.38	3.56	-0.18	3.69	-0.31
19	95~97	3.47	3.74	-0.27	3.64	-0.17
20	76~78	4.11	3.90	0.21	4.20	-0.09
21	102~103	3.50	3.62	-0.12	3.54	-0.04
22	75~77	4.16	4.08	0.08	4.00	0.16
23	51~53	3.39	3.39	0.00	3.25	0.14
24	45~46	3.40	3.28	0.12	3.28	0.12
25	74~77	4.47	4.25	0.22	4.44	0.03
26	66~68	3.18	3.34	-0.16	3.21	-0.03
27	121~122	3.13	3.13	0.00	3.25	-0.12
28	112~114	3.99	3.89	0.10	3.54	0.45
29	80~81	3.05	3.05	0.00	-	-

<sup>a</sup>Ph(X)=H.; Ph(Y)=sub.:1~15, Ph(X)=sub.; Ph(Y)=H: 16~29.<sup>b</sup>The values were calculated according to the eq. 1 and <sup>c</sup>eq. 2.Fig. 2. Hypothesized interaction between  $\alpha,\beta$ -unsaturated carbonyl system of chalcone and carboxyl and hydroxyl residue of FPTase.

에 의한 공명효과( $R < 0$ )로  $\alpha$ 탄소의 전자밀도에 영향을 미치므로<sup>9)</sup>  $\alpha,\beta$ -불포화 vinyl group의 전하 증가가 활성에 영향을 미칠것으로 짐작된다. 그리고 식 (1)과 (2)에 의하여 계산된 FPTase 저해활성값들(Table 3)이 잘 맞고 있음을 알 수 있다.

이상과 같은 검토결과에 따라 Fig. 2에는 기질-수용체간 상호 작용관계를 가정하여 제안하였다. 즉, 기질 물질은 구조상 퀴퀴게이트 계를 이루고 있음으로 인한 공명 기여구조로 carbonyl group의 산소원자에는 X-선 회절분석법으로 구조가 밝혀진<sup>14)</sup> 9개의 펩타이드 잔기(Ala<sup>9</sup>-Val<sup>8</sup>-Thr<sup>7</sup>-Ser<sup>6</sup>-Asp<sup>5</sup>-Pro<sup>4</sup>-Ala<sup>3</sup>-Thr<sup>2</sup>-Asp<sup>1</sup>-COOH)로 구성되어 있는 수용체중 Asp<sup>1</sup> 또는 Asp<sup>5</sup>의 carboxyl group과의 양성자화 반응<sup>15)</sup>으로 산-축매된 carbonyl 탄소원자에 대한 Ser<sup>9</sup>의 hydroxyl group이 친핵첨가 반응에 따른 새로운 ester 결합생성 반응 등과 같은 상호작용으로 FPTase 저해가 일어나는 것으로 믿어진다. 이때 두 phenyl group은 Val<sup>8</sup>이나 Ala<sup>9</sup>과 같은 소수성 부분과 Van der Waals 인력에 의한 소수성적 상호작용이 일어날 것이다. 그러나 더욱 구체적인 자료로부터 보다 진전된 보완이 이루어져야 하겠다.

### 참고문헌

- Sung, N. D., Yu, S. J., Kim, T. Y., and Ok, W. S. (1998) Influence of substituted phenyl backbone on the fungicidal activity of 2-thenyl and 2-furyl substituents in bis-aromatic  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone derivatives. *Kor. J. Pestic. Sci.* **2**, 22-27.
- Sung, N. D., Yu, S. J., Choi, K. S., and Kim, H. J. (1998) Influence of substituted phenyl backbone on the fungicidal activity of phenyl or 2-pyridyl substituents in bis-aromatic  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone derivatives. *Kor. J. Pestic. Sci.* **2**, 45-51.
- 柴田承二, 求田信草, 岩田進, 西野剛史, 抗腫瘍濟, (1994) 日本特許出願公開番號 6-122623.
- Sung, N. D., Kwon, B. M., Lim, C. H., and Cho, Y. K. (1998) Inhibition of farnesyl protein transferase by ortho-substituted cinamaldehyde derivatives. *Agric. Chem. Biotechnol.* **41**, 218-221.
- Kubinyi, H. and Kehrhahn, O. H. (1976) Quantitative structure activity relationship. 1. The modified Free-Wilson approach. *J. Med. Chem.* **19**, 579-586.
- Kubinyi, H. (1993) QSAR: Hansch analysis and related approaches VCH. Weinheim, New York.
- Yu, S. J. (1998) A 2-D and 3-D QSARs analyses on the antitumor activity of novel bis-aromatic  $\alpha,\beta$ -unsaturated ketone derivatives., Ph. D. Thesis., Graduate school, Chungnam National University.
- Coburn, R. A. (1987) QSAR-PC PAR. Biosoft Cambridge U.K.
- Solaniova, E., Toma., S. and Gronowitz, S. (1976) Investigation of substituent effects of chalcones by <sup>13</sup>C NMR Spectroscopy, *Org. Magn. Reson.* **8**, 439-443.
- Hansch, C. and Fujita, T. (1995) Classical three-dimensional QSAR in agrochemistry. Ch. 8, 114, ACS symposium series, 606., ACS, Washington. DC.
- Topliss, J. G. and Martin, Y. C. (1975) Drug design. (E. J. Ariens, Ed.) Vol. 5. p.1. Academic Press. New York.
- Pennistone, J. T., Beckett, L., Bentley, D. L. and Hansch, C. (1969) Passive permeation of organic compounds through biological tissue: A non steady state theory. *Mol. Pharmacol.* **5**, 333-338.
- John, A., Panaye, M. A. and Dubois, J. -E. (1978) Steric effects(I): A critical examination of the Taft steric parameter, Es. Definition of a revised, broader and homogeneous scale. Extension to highly congested alkyl groups. *Tetrahedron* **34**, 3553-3562.
- Park, H. W., Bodulari, S. R., Moomaw, J. F., Casey, R. J. and Bees, L. S. (1997) Crystal structure of protein farnesyl transferase at 2.25 angstrom resolution. *Science* **275**, 1800-1804.
- Nishioka, T., Fujita, T., Kamoshita, K. and Nakajima, M. (1977) Mechanism of inhibition reaction of acetylcholinesterase by phenyl N-methylcarbamates. *Pestici. Biochem. Physiol.* **7**, 107-121.

### The Farnesyl Protein Transferase Inhibition Activity of Chalcone Derivatives

Nack-Do Sung\*, Seong-Jae Yu, Pyung-Keun Myung<sup>1</sup>, Byung-Mok Kwon<sup>2</sup> and Seung-Ho, Lee<sup>2</sup>(Division of Applied Biology & Chemistry, Chung-nam National University, Taejon, 305-764, Korea; <sup>1</sup>Division of Pharmacy, Chung-nam National University, Taejon, 305-764, Korea; <sup>2</sup>Protein Regulator R.U., Korea Research Institute Bioscience and Biotechnology, Yusong, Taejon, 305-600, Korea)

**Abstract :** Inhibition activities( $pI_{50}$ ) of chalcone derivatives as substrate with farnesyl protein transferase(FPTase) were determined *in vitro*. The structure activity relationships(SAR) between the activity and physicochemical parameters of X & Y-substituents on the phenyl groups were analyzed by Free-Wilson and Hansch method. X-substituents on the benzoyl group have the more important role to inhibition activity than Y-substituents on the styryl group. Among them, none substituent, 8 showed the highest FPTase inhibition activity( $pI_{50} = 4.30$ ). Particularly, the SAR equation could be formulated, showing a parabolic relationship between the activity and hydrophobicity( $\log P$ ) where the optimal value( $\Sigma \log P$ )<sub>opt.</sub> was 3.915. And also the activity depends on the steric effect( $E_s > 0$ ) with X-substituent and the resonance effect( $R < 0$ ) with electron donating Y-substituents. Based on the results of SAR analyses, the interactions between substrates and receptor, FPTase, could be assumed.

Key words : Chalcones, QSAR, FPTase inhibition activity, Free-Wilson & Hansch analysis

\*Corresponding author