

항염증효과를 갖는 2'-하이드록시찰콘 유도체의 합성

이영숙 · 김학성[#]

원광대학교 약학대학 약품연구소

(Received September 19, 2011; Revised September 20, 2011; Accepted September 21, 2011)

Synthesis of Anti-inflammatory 2'-Hydroxychalcone Derivatives

Young Sook Lee and Hak Sung Kim[#]

College of Pharmacy, Institute of Pharmaceutical Research and Development, Wonkwang University, Iksan 570-749, Korea

Abstract — It was reported that the potency of TMMC derivatives was related to the presence of the 2'-hydroxy group on the A ring. Also, 4-dimethylamino group on the B ring lowered the anti-inflammatory potency of the chalcones. We synthesized various derivatives of 2'-hydroxy chalcones having other substituents on B ring. The synthetic derivatives showed the more potent anti-inflammatory effect, comparable to that of the TMMC derivatives reported previously.

Keywords □ chalcone, 2'-hydroxy group, anti-inflammatory, TMMC

찰콘은 다양한 생리활성¹⁾ 즉, 항암효과²⁾ 항산화효과,³⁾ 항분열효과,⁴⁾ 화학적 mediator유리 저해효과,⁵⁾ 혈관신생 저해효과,⁶⁾ 그리고 항염증효과⁷⁾ 등을 보여준다. 2'-하이드록시찰콘 유도체가 세포독성을 갖고 있다는 것은⁸⁾ 본 연구를 추진하는 계기가 되었다.

본 연구진은 항염증 효과를 갖는 TMMC(2',4',6'-tris(methoxymethoxy)chalcone) 화합물의 구조를 기반으로 하여 A 고리의 치

환기를 다양하게 변화시킨 유도체를 합성하였다(Fig. 1).⁹⁾ 찰콘이 투여될 때 세포 내의 GSH(glutathione)가 고갈되는 현상이 발견되었으며 세포보호 역할을 하는 GSH의 고갈이 오히려 세포를 보호하는 세포신호를 야기한다는 사실도 밝혀졌다.¹⁰⁾ 또한 찰콘의 A 고리에 전자주개 효과를 보여주는 치환체가 있을 경우 찰콘의 효과를 높여준다는 사실도 밝혀졌다.¹¹⁾ 이러한 현상은 전

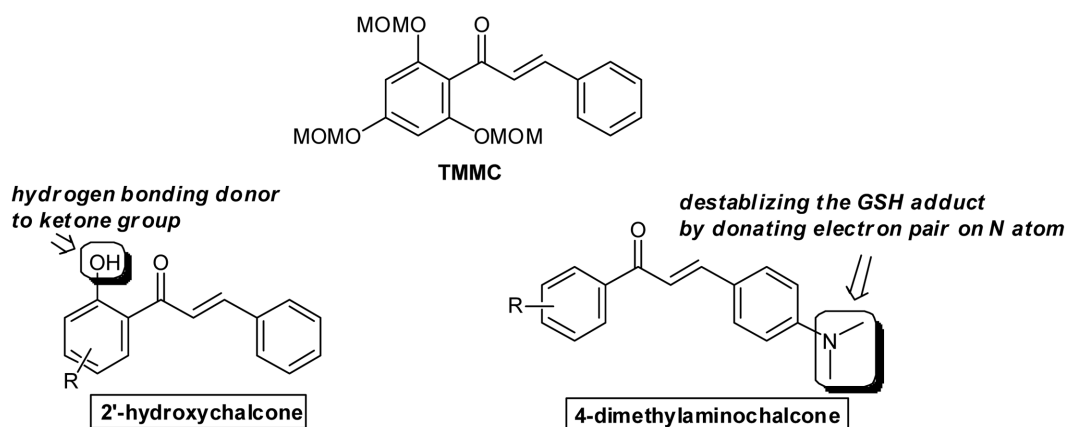


Fig. 1 – The structures of chalcone derivatives.

[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 063-850-6818 (팩스) 063-843-1581
(E-mail) hankidad@wku.ac.kr

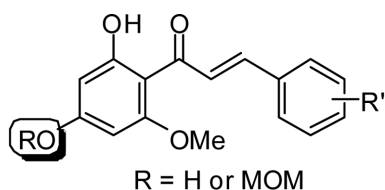


Fig. 2 - The target derivatives of 2'-hydroxychalcone and 2',4'-dihydroxychalcone.

자주개 치환기가 찰콘의 GSH 부가물이 제거되는 속도를 늦추어 GSH의 고갈을 지속적으로 유지하게 해주기 때문인 것으로 추정된다. 이후에 발표된 결과물에서도 B 고리의 4-dimethylamino 그룹의 존재가 찰콘의 항염증 효과를 낮춘다는 연구결과 역시 이전의 가설을 기반으로 한 예측과 맞아 떨어졌다.¹²⁾ 또한 2007년과 2008년의 연구결과를 해석해 보았을 때 2'-hydroxy 그룹의 존재가 찰콘의 항염증 효과에 매우 효과적이라는 것을 알 수 있었다. 2'-Hydroxy 그룹이 케톤 그룹과 수소결합을 형성하면서 GSH의 부가반응(Michael addition)을 촉진시키는 것으로 추정하고 있다.

2'-Hydroxy 그룹의 역할에 대한 결론을 얻기 위한 연구는 2008년에 발표되었다.¹²⁾ 2'-Hydroxy 그룹은 GSH의 Michael 부가반응을 촉진하지만 이것 외에도 페놀 그룹은 ortho 위치의 케톤기의 도움으로 라디칼 중간체를 안정시키는 효과가 있어서 GSH 라디칼형태를 GSSG로 변화시키는 역할을 수행한다.⁸⁾ GSH를 산화시켜 GSSG로 변환시키는 작용을 막고 전자주개 효과만을 보기 위해 2'-hydroxy 그룹을 2'-methoxy 그룹으로 바꾸어 항염증 효과를 측정할 결과 2'-hydroxy 그룹이 있을 때에 비해 효과가 크게 떨어진 것을 관찰할 수 있었다. 본 연구에서는 이러한 결과를 토대로 A 고리에 2'-hydroxy 그룹을 두고 A 고리의 4과 6의 위치와 B 고리에서 좋은 효과를 보여주었던 다양한 치환체를 도입한 유도체를 합성하여 그 항염증효과를 보았으며 구조와 항염증 효과의 관계를 밝히고자 하였다(Fig. 2).

실험방법

시약 및 기기

본 실험에 사용한 시약은 Aldrich-Sigma에서 구매하였으며, 추출 및 컬럼크로마토그래피용 용매는 국내 동양화학(주)로부터 구매한 특급용매를 증류와 같은 별도의 정제과정을 거치지 않고 그대로 사용하였다. 무수용매는 특급용매에 대해 별도의 건조 및 증류과정을 적용하여 얻어진 것을 이용하였다. ¹H-NMR은 JEOL ECLITSE-500 Spectrometer(500 MHz)를 사용하여 측정하였으며 ¹³C-NMR은 내부표준 물질로 tetramethylsilane(TMS)을 사용하였다. 분석용 박층 크로마토그래피(TLC)는 Merck 제품인 실리카 겔 60F₂₅₄를 사용하였고, 일반 컬럼크로마토그래피는 Merck 제품인 Kieselgel 60(70-200 Mesh)를 사용하였다.

합성방법

2',4'-Dimethoxymethoxy-6-hydroxyacetophenone (1) - 2',4,6'-Trihydroxyacetophenone(4.0 g, 21.49 mmol)와 *N,N*-diisopropylethylamine(5 ml, 33.4 mmol)을 CH₂Cl₂(20 ml)에 용해시킨 용액에 chloromethyl ether(4.07 ml, 53 mmol)을 0°C에서 천천히 부가하였다. 같은 온도에서 12시간 동안 교반한 후 반응물에 증류수(10 ml)를 넣어 과량의 chloromethyl ether를 파괴하였다. 반응혼합물을 증류수(100 ml)와 ethyl acetate(150 ml) 두 층에 분배시킨 후 유기층을 분리하고 수층을 ethyl acetate(50 ml)로 다시 추출하였다. 유기층을 모은 후 10% 염화나트륨 수용액(30 ml)으로 두 번에 걸쳐 씻어내고 분리된 유층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과하여 여액을 감압농축하였다. 얻어진 잔류물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(*n*-hexane/ethyl acetate=5:1)로 분리 정제하여 di-MOM chalcone **1**(5.3 g, 88%)을 얻었다. ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 6.2(s, 2H), 5.23(s, 2H), 5.14(s, 2H), 3.49(s, 3H), 3.44(s, 3H), 2.63(s, 2H).

1-(2-Methoxy-4,6-bis(methoxymethoxy)phenyl)ethanone (2) - NaH(60% in oil, 310 mg, 7.8 mmol)을 THF(8 ml)에 현탁시키고 0°C로 냉각한 후 화합물 **1**(400 mg, 1.5 mmol)의 무수 THF(5 ml) 용액을 주사기를 이용해 5분 간에 걸쳐 추가하였다. 수소 가스 발생이 멈춘 것을 확인한 후 동일한 온도에서 dimethylsulfate(156 μl, 1.65 mmol)를 천천히 주사기로 추가하였다. 2시간 동안 동일 온도에서 교반하고 반응이 완결된 후 증류수(0.5 ml)로 과량의 NaH를 파괴하였다. 반응혼합물을 증류수(20 ml)와 ethyl acetate(50 ml) 두 층에 분배시킨 후 유기층을 분리하고 수층을 ethyl acetate(20 ml)로 다시 추출하였다. 유기층을 모은 후 10% 염화나트륨 수용액(20 ml)으로 두 번에 걸쳐 씻어내고 분리된 유층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과하여 여액을 감압농축하였다. 얻어진 잔류물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(*n*-hexane/ethyl acetate=3:1)로 정제하여 화합물 **2**(265 mg, 63%)를 얻었다. ¹H-NMR(500 MHz, CDCl₃) δ 6.50(d, 2H, *J*=3.7 Hz), 5.11~5.14(m, 4H), 3.44~3.46(m, 9H), 2.49(s, 3H).

(E)-1-(2-methoxy-4,6-bis(methoxymethoxy)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (3a) - 1-(2,4,6-Tris(methoxymethoxy)phenyl)ethanone **2**(200 mg, 0.7 mmol)와 potassium hydroxide(393 mg, 7 mmol)를 methanol(10 ml)에 용해시킨 후 상온에서 *p*-anisaldehyde(0.08 ml, 0.7 mmol)를 추가하였다. 세 시간 동안 교반한 후 반응용매를 감압증류하고 남은 잔사에 ethyl acetate(20 ml)를 넣고 5% HCl(8 ml), 증류수(3 ml)와 brine(8 ml)를 연속적으로 처리하였다. 분리된 유기층을 무수 황산나트륨으로 건조시키고 여과하여 여액을 감압농축하였다. 얻어진 잔류물을 실리카겔 컬럼크로마토그래피(*n*-hexane/ethyl acetate=2:1)로 정제하여 화합물 **3a**(230 mg, 80%)을 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3399, 1597, 1018; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.47(d, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.31(d, 1H, $J=16.05$ Hz), 6.88(d, 2H, $J=9.15$ Hz), 6.85(d, 1H, $J=16.05$ Hz), 6.49(d, 1H, $J=1.8$ Hz), 6.35(d, 1H, $J=1.85$ Hz), 5.18(s, 2H), 5.09(s, 2H), 3.81(s, 3H), 3.74(s, 3H), 3.49(s, 3H), 3.36(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 194.6, 161.6, 159.8, 155.9, 144.9, 130.2, 130.2, 127.7, 127.0, 114.4, 114.1, 96.1, 94.7, 94.1, 56.4, 56.3, 56.0, 55.5.

#3b-3o에 대한 실험과정 및 $^1\text{H-NMR}$ 과 $^{13}\text{C-NMR}$ 자료는 전 논문에서 보고되어 있어¹²⁾ 본 논문에서는 제외하였다.

(E)-1-(2-hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)phenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (4a) – 3a(0.06 g, 0.18 mmol)를 MeOH(0.5 ml)에 용해시킨 후 3 N HCl(0.05 ml)를 가한 후 반응물을 상온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응혼합물을 완전히 감압증류하고 잔사를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(*n*-hexane/ethyl acetate=5 : 1)로 정제하여 화합물 **4a**(42 mg, 78%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3361, 1624, 1044; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.79(s, 2H), 7.57(d, 1H, $J=8.7$ Hz), 6.93(d, 2H, $J=8.7$ Hz), 6.26(d, 1H, $J=2.2$ Hz), 6.07(d, 1H, $J=2.2$ Hz), 5.20(s, 2H), 3.92(s, 3H), 3.85(s, 3H), 3.48(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.9, 167.8, 163.6, 162.6, 161.5, 142.7, 130.5, 130.3, 128.3, 125.2, 114.4, 107.1, 96.7, 94.1, 91.8, 56.6, 56.0, 55.5.

(E)-1-(2-hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)phenyl)-3-(3-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one (4b) – **4b**에 대한 합성 과정은 **4a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **4b**(53 mg, 45%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3339, 1645, 1328, 1045; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.86(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.72(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.19(d, 1H, $J=7.6$ Hz), 7.07(s, 1H), 7.85(d, 1H, $J=7.6$ Hz), 6.27(d, 1H, $J=2.3$ Hz), 6.07(d, 1H, $J=2.3$ Hz), 5.20(s, 2H), 3.49(s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.9, 167.9, 163.9, 162.8, 155.9, 142.1, 137.3, 130.2, 128.0, 121.4, 117.3, 114.7, 107.1, 96.6, 94.1, 91.9, 56.6, 56.0.

(E)-1-(2-hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)phenyl)-3-(4-nitrophenyl)prop-2-en-1-one (4c) – **4c**에 대한 합성 과정은 **4a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **4c**(46 mg, 54%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3364, 1048; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 8.46(t, 1H, $J=2.0$ Hz), 8.23~8.21(m, 1H), 7.98(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.87(d, 1H, $J=7.8$ Hz), 7.77(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.61~7.58(m,

1H), 6.28(d, 1H, $J=2.0$ Hz), 6.09(d, 1H, $J=2.0$ Hz), 5.21(s, 2H), 3.95(s, 3H), 3.49(s, 3H).

(E)-3-(2,4-dimethoxyphenyl)-1-(2-hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)phenyl)prop-2-en-1-one (4d) – **4d**에 대한 합성 과정은 **4a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **4d**(41 mg, 67%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3357, 1624, 1205, 1047; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.84(d, 1H, $J=15.7$ Hz), 7.70(d, 1H, $J=15.7$ Hz), 6.75(d, 2H, $J=2.5$ Hz), 6.51(t, 1H, $J=2.5$ Hz), 6.26(d, 1H, $J=2.3$ Hz), 6.07(d, 1H, $J=2.3$ Hz), 5.20(s, 2H), 3.91(s, 3H), 3.48(s, 9H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.9, 167.9, 163.8, 162.7, 161.1, 142.4, 137.5, 128.2, 106.5, 102.2, 96.7, 94.1, 91.9, 56.6, 56.0, 55.5, 51.0.

(E)-1-(2-hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)phenyl)-3-(4-(methylthio)phenyl)prop-2-en-1-one (4e) – **4e**에 대한 합성 과정은 **4a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **4e**(35 mg, 70%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3358, 1624, 1420, 1044; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.86(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.76(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.52(d, 2H, $J=8.6$ Hz), 6.26(d, 1H, $J=2.7$ Hz), 6.07(d, 1H, $J=2.7$ Hz), 5.20(s, 2H), 3.92(s, 3H), 3.49(s, 3H), 2.51(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.8, 167.9, 163.7, 162.7, 142.2, 141.9, 132.2, 128.9, 126.5, 127.1, 107.1, 96.7, 94.2, 91.9, 56.6, 56.0, 15.3.

(E)-1-(2-hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)phenyl)-3-m-tolylprop-2-en-1-one (4h) – **4h**에 대한 합성 과정은 **4a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **4h**(34 mg, 54%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3325, 1629, 1420, 1043; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.88(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.77(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.43(d, 1H, $J=7.8$ Hz), 7.41(d, 1H, $J=7.9$ Hz), 7.31(t, 1H, $J=7.8$ Hz), 7.21(d, 1H, $J=7.8$ Hz), 6.27(d, 1H, $J=2.0$ Hz), 6.07(d, 1H, $J=2.0$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 193.0, 167.9, 163.7, 162.7, 142.8, 138.6, 135.6, 131.1, 129.4, 128.9, 127.4, 125.5, 107.1, 96.7, 94.1, 91.9, 56.6, 56.0, 21.3.

(E)-3-(3,4-difluorophenyl)-1-(2-hydroxy-6-methoxy-4-(methoxymethoxy)phenyl)prop-2-en-1-one (4n) – **4n**에 대한 합성 과정은 **4a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **4n**(45 mg, 71%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3334, 1622, 1422, 1044; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.76~7.81(m, 1H), 7.67(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.39~7.43(m, 1H), 7.30~7.32(m, 1H), 7.22(q, 1H, $J=6.8$ Hz), 6.27(d, 1H, $J=2.3$ Hz), 6.08(d, 1H, $J=2.3$ Hz), 5.20(s, 2H), 3.39(s, 3H), 3.92(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.4, 171.3, 167.9, 164.0, 162.7, 140.0, 132.9, 128.6, 125.3, 117.9,

116.4, 106.9, 96.7, 94.1, 91.9, 60.5.

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (5a) – **4a** (0.03 g, 0.07 mmol)를 아세트톤(0.5 ml)에 용해시킨 후 6 N HCl(0.05 ml)를 가한 후 반응물을 상온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응혼합물을 완전히 감압증류하고 잔사를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(*n*-hexane/ethyl acetate=2 : 1)로 정제하여 화합물 **5a**(12 mg, 58%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3356, 1642, 1381, 1045; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 10.31(s, 1H), 7.77(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.68(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.68(d, 2H, $J=8.9$ Hz), 7.02(d, 2H, $J=8.9$ Hz), 6.01(s, 1H), 3.85(s, 3H), 3.81(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 196.9, 170.4, 168.3, 166.4, 165.6, 146.9, 135.5, 132.9, 130.3, 119.9, 112.1, 109.8, 96.3, 61.0, 60.7.

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(3-hydroxyphenyl)prop-2-en-1-one (5b) – **5b**에 대한 합성과정은 **5a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **5b**(15 mg, 54%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3417, 1704, 1362, 1092; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 9.67(s, 1H), 7.84(d, 1H, $J=15.7$ Hz), 7.58(d, 1H, $J=15.7$ Hz), 7.26(t, 1H, $J=8.9$ Hz), 7.12(d, 1H, $J=7.9$ Hz), 7.06(s, 1H), 6.84(1H, dd, $J=2.2$ Hz), 6.01(s, 1H), 3.86(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 196.9, 170.4, 165.7, 163.0, 146.8, 141.6, 135.4, 132.7, 124.9, 122.8, 119.5, 112.1, 109.8, 96.4, 61.0.

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(2,4-dimethoxyphenyl)prop-2-en-1-one (5d) – **5d**에 대한 합성과정은 **5a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **5d**(21 mg, 45%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3341, 1638, 1383, 1044; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.86(d, 1H, $J=15.7$ Hz), 7.58(d, 1H, $J=15.7$ Hz), 6.85(d, 2H, $J=2.8$ Hz), 6.57(t, 1H, $J=2.3$ Hz), 6.02(s, 1H), 3.84(s, 3H), 3.79(s, 6H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 197.0, 170.2, 168.7, 166.0, 165.7, 146.4, 142.3, 133.7, 112.1, 111.4, 109.9, 107.5, 96.3, 61.0, 60.6.

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(4-(methylthio)phenyl)prop-2-en-1-one (5e) – **5e**에 대한 합성과정은 **5a**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **5e**(23 mg, 56%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3357, 1645, 1382, 1044; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.84(d, 1H, $J=15.1$ Hz), 7.63~7.66(m, 4H), 7.31(d, 2H, $J=16.1$ Hz), 6.01(s, 1H), 3.85(s, 3H), 2.51(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 170.4, 168.5, 165.6, 146.8, 146.4, 136.7, 134.1, 131.8, 131.0, 112.1, 109.8, 96.3, 19.5.

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(2,5-dimethylphenyl)prop-2-en-1-one (5f) – **4f**(0.04 g, 0.07 mmol)를 아세트톤(0.5 ml)에 용해시킨 후 6 N HCl(0.25 ml)를 가한 후 반응물을 상온에서 1시간 동안 교반하였다. 반응혼합물을 완전히 감압증류

하고 잔사를 실리카겔 컬럼크로마토그래피(*n*-hexane/ethyl acetate = 2 : 1)로 정제하여 화합물 **5f**(32 mg, 46%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3338, 1646, 1383, 1044; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.87(d, 1H, $J=15.9$ Hz), 7.79(d, 1H, $J=15.9$ Hz), 7.47(s, 1H), 7.12~7.17(m, 3H), 6.02(s, 1H), 3.85(s, 3H), 2.37(s, 3H), 2.31(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 193.1, 167.8, 163.7, 162.7, 140.5, 135.7, 134.9, 134.1, 130.9, 130.8, 128.4, 127.4, 107.1, 96.7, 94.1, 91.9, 56.0, 21.2, 19.6.

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(4-fluorophenyl)prop-2-en-1-one (5g) – **5g**에 대한 합성과정은 **5f**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **5g**(45 mg, 49%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3339, 1630, 1345, 1046; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.85(d, 1H, $J=15.7$ Hz), 7.80(dd, 2H, $J=4.5$, 8.7 Hz), 7.68(d, 1H, $J=15.7$ Hz), 7.30(t, 2H, $J=9.1$ Hz), 6.01(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 196.8, 170.4, 168.2, 167.3, 165.7, 145.3, 136.0, 135.9, 132.9, 121.4, 121.3, 112.1, 109.8, 96.3, 61.0.

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(4-ethylphenyl)prop-2-en-1-one (5i) – **5i**에 대한 합성과정은 **5f**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **5i**(35 mg, 69%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3361, 1645, 1382, 1045; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 9.59(s, 1H), 7.95(d, 1H, $J=15.2$ Hz), 7.86(d, 1H, $J=15.2$ Hz), 7.55(d, 2H, $J=7.5$ Hz), 6.07(s, 1H), 3.90(s, 3H), 2.70(q, 2H, $J=3.1$ Hz), 1.27(t, 3H, $J=7.1$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.7, 164.6, 163.7, 162.0, 147.3, 143.8, 133.0, 128.8, 128.6, 125.9, 106.9, 93.1, 56.0, 29.0, 15.5.

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(4-propoxyphenyl)prop-2-en-1-one (5j) – **5j**에 대한 합성과정은 **5f**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **5j**(21 mg, 78%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3333, 1603, 1424, 1044; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.85~7.76(m, 2H), 7.55~7.34(m, 2H), 6.91~6.80(m, 3H), 6.07(d, 1H, $J=2.0$ Hz), 3.96~3.82(m, 5H), 1.83(s, 2H), 1.03(s, 3H); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.5, 164.7, 163.6, 161.9, 161.3, 143.9, 130.4, 130.2, 128.0, 124.2, 115.0, 107.0, 93.0, 91.2, 69.8, 56.2, 22.6, 10.6.

(E)-3-(3,5-difluorophenyl)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (5k) – **5k**에 대한 합성과정은 **5f**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **5k**(27 mg, 53%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3339, 1637, 1044; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.83(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.58(d, 1H, $J=15.6$ Hz), 7.51(dd, 2H, $J=2.1$ Hz), 7.29~7.73(m, 1H), 6.02(d, 1H, $J=2.0$ Hz), 5.93(d, 1H, $J=2.0$ Hz), 3.86(s, 3H).

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(4-ethoxyphenyl)prop-2-en-1-one (5m) – **5m**에 대한 합성과정은 **5f**의 합성 방법과 동일하게 적용하여 **5m**(21 mg, 42%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3345, 1620, 1043; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.79(d, 2H, $J=1.9$ Hz), 7.56(d, 2H, $J=8.8$ Hz), 6.92(d, 2H, $J=8.8$ Hz), 6.10(d, 1H, $J=1.9$ Hz), 5.96(d, 1H, $J=1.9$ Hz), 4.12(m, 2H), 3.92(s, 3H), 1.44(t, 3H, $J=7.2$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.8, 168.5, 168.0, 163.3, 160.9, 142.8, 130.2, 128.2, 125.0, 114.9, 106.4, 96.8, 91.3, 63.7, 55.9, 14.8.

(E)-3-(3,4-difluorophenyl)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one (5n) – 5n에 대한 합성과정은 5f의 합성 방법과 동일하게 적용하여 5n(25 mg, 64%)를 얻었다.

IR(neat, cm^{-1}) 3338, 1614, 1434, 1045; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.88(m, 1H), 7.78(d, 1H, $J=15.8$ Hz), 7.61(d, 1H, $J=15.8$ Hz), 7.53(m, 2H), 6.08(d, 1H, $J=2.0$ Hz), 5.93(d, 1H, $J=2.0$ Hz), 3.86(s, 3H).

(E)-1-(2,4-dihydroxy-6-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethylphenyl)prop-2-en-1-one (5o) – 5g에 대한 합성과정은 5f의 합성 방법과 동일하게 적용하여 5g(19 mg, 51%)를 얻었다.

IR(neta, cm^{-1}) 3355, 1625, 1045; $^1\text{H-NMR}$ (500 MHz, CDCl_3) δ 7.85(d, 1H, $J=15.3$ Hz), 7.63(d, 1H, $J=15.3$ Hz), 7.46(t, 2H, $J=8.7$ Hz), 7.22(d, 1H, $J=8.2$ Hz), 6.01(s, 1H), 3.85(s, 3H), 2.26(d, 6H, $J=3.6$ Hz); $^{13}\text{C-NMR}$ (125 MHz, CDCl_3) δ 192.4, 166.7, 165.4, 163.2, 142.9, 139.9, 137.6, 133.1, 130.7, 130.1, 126.8, 126.5, 105.7, 96.4, 92.2, 56.6, 20.0, 19.9.

NO 생산 저해효과 시험법

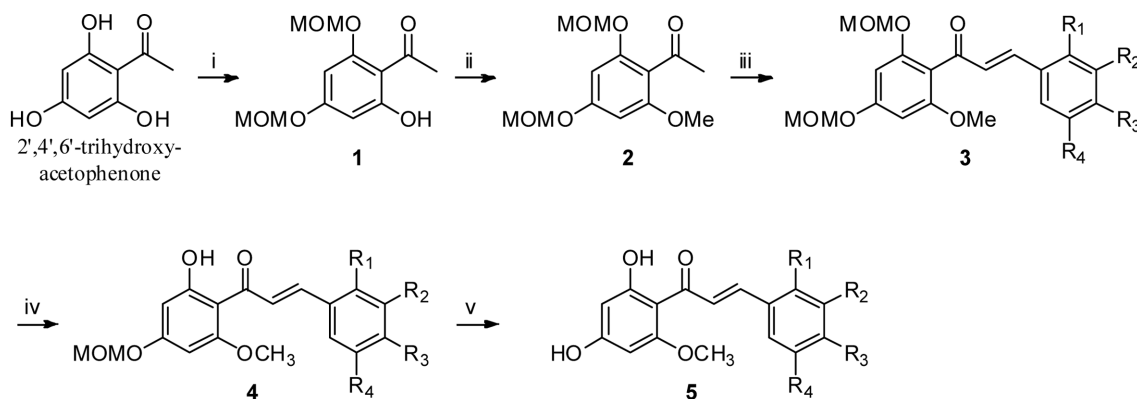
Nitrite(NO_2^-) 레벨을 측정하여 NO(일산화질소, nitric oxide)의 생산 정도를 측정하였다. RAW 264.7 cells(5×10^5 cells)를 37°C 에서 합성유도체와 함께 1시간 동안 배양한 후 LPS($1 \mu\text{g/ml}$)로 자극하였다. 24시간 동안 배양한 후, 배양 배지($100 \mu\text{l}$)를 동일한 부피의 Griess reagent(1% sulfanilamide and 0.1% naphthylethylenediamide in 5% phosphoric acid)와 상온에서 10분 동안

반응시킨 다음 마이크로플레이트 리더를 이용하여 550 nm에서 흡광도를 측정하였다. Nitrite의 농도는 sodium nitrite 염을 표준물질로 하여 결정되었고 모든 결과는 Tabel II에 정리하였다.

결과 및 고찰

본 연구의 유도체 합성 방법은 Scheme 1에 제시되어 있다. 본 연구의 목적물질인 2'-hydroxychalcone 유도체와 2',4'-dihydroxychalcone 유도체의 합성은 상업적으로 구입 가능한 2',4',6'-trihydroxyacetophenone을 출발물질로 하여 2'-hydroxychalcone 4는 네 단계 2',4'-dihydroxychalcone 5은 다섯 단계에 걸쳐 이루어졌다.

합성 방법은 앞서 발표된 논문의 방법을 그대로 이용하였다.^{11,12} 2',4',6'-trihydroxyacetophenone을 MOM group으로 보호할 때 2'과 4' 하이드록시 그룹이 보호되는 속도는 크게 차이가 없으나 일단 두 하이드록시 그룹에 MOM그룹이 연결되면 나머지 6'-hydroxy 그룹의 반응성이 크게 떨어진다는 점을 이용하여 2당량의 MOMCl를 사용하여 2'과 4' 하이드록시 그룹만이 MOM 그룹으로 보호된 diMOM-acetophenone 1을 88%의 수율로 합성하였고 남아 있는 6'-hydroxy 그룹은 NaH를 염기로 하여 phenoxide로 바꾼 후 디메틸설페이트로 처리하여 63% 수율로 O-methylation하여 화합물 2를 합성하였다. 화합물 2와 다양한 benzaldehydes와 과량의 KOH로 처리하여 알돌축합 반응을 하여 diMOM-chalcones 3a~3o를 합성한 후 10% 3 N HCl(in MeOH)로 처리하여 2'위치의 MOM 그룹을 탈보호 하여 4a~e, 4h 그리고 4n을 합성하였다. 4a부터 4o까지 연속으로 합성하지 못한 것은 2'위치의 MOM 그룹을 선택적으로 탈보호 하지 못했기 때문이다. 4l과 5l은 이미 B ring의 4-dimethylamino 그룹이 있을 때 항염증 효과가 크게 저해된다는 이전의 연구결과를 토대로 합성하지 않았다. 5f~g, 5i~k, 5m과 5o는 10% 3 N



Reagents and conditions: i) 2eq MOMCl, *N,N*-diisopropylethylamine, CH_2Cl_2 , 0°C , 12 h, 88%. ii) $(\text{CH}_3)_2\text{SO}_4$, NaH, THF, 0°C , 2 h, 63%. iii) benzaldehyde, KOH, abs. MeOH, rt, 3 h. iv) 10% 3 N HCl in MeOH, rt, 2 h. v) 10% 6 N HCl in acetone, rt, 1 h.

Scheme 1 – Synthesis of 2'-hydroxy and 2',4'-dihydroxychalcones.

Table I - The structures of the synthetic derivatives 4 and 5

	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
4a, 5a			-OCH ₃	
4b, 5b		-OH		
4c		-NO ₂		
4d, 5d		-OCH ₃		-OCH ₃
4e, 5e			-SCH ₃	
5f	-CH ₃			-CH ₃
5g			-F	
4h		-CH ₃		
5i			-CH ₂ CH ₃	
5j			-O <i>n</i> Pr	
5k		-F		-F
5m			-OCH ₂ CH ₃	
4n, 5n		-F	-F	
5o		-CH ₃	-CH ₃	

HCl(in MeOH)의 조건으로 처리했을 때 2'과 4'위치의 두 개의 MOM 그룹이 동시에 탈보호되어 언어졌다. 5a~b와 5d~e, 5n의 합성은 4a~b와 4d~e, 4n을 10% 6 N HCl(in MeOH)과 같이 좀 더 강력한 산성 조건으로 처리하여 4'위치의 MOM 그룹을 탈보호하여 이루어졌다.

합성유도체 4, 5의 구조는 Table I에 정리되어 있다. 유도체 4는 2'-hydroxy-4'-methoxymethoxychalcone의 골격을 유도체 5는 2',4'-dihydroxychalcone의 골격을 갖고 있다. B 고리에 있는 치환기의 위치는 R₁~R₄로 표시하였다. *In vitro*에서 항염증 효과를 본 유도체는 총 19개였다.

화합물 4, 5의 19개 합성유도체의 항염증 효과를 Table II에 정리해 놓았다. 항염증 효과는 RAW 264.7 cell를 일정량의 LPS로 처리했을 때 발생하는 NO₂ 수준이 합성유도체를 처리했을 때 얼마나 감소하는지를 본 것이다.

Table II에서 NO production의 수치가 낮으면 낮을수록 항염증 효과가 더 강력한 것으로 해석한다. 몇몇 예외적인 경우가 있지만 대부분의 유도체가 2'-하이드록시 기를 갖고 있지 않은 TMMC에 비해 높은 NO production 저해활성을 보여준다. 유도체 4(A ring에 2'-OH, 4'-OMOM, 6'-OMe) 시리즈에 비해 5(A ring에 2'-OH, 4'-OH, 6'-OMe) 시리즈의 NO production 저해활성이 두드러지게 떨어지는 것을 볼 수 있다. 예를 들면 4a에 비해 5a는 5.0 μM에서 대략 25배 정도 NO production 저해 효과가 떨어지며 이는 4b와 5b의 경우 10배, 4d에 비해 5d는 아예 저해효과 자체가 없으며 4e에 비해 5e 역시 5.0 μM에서 20배 정도 약한 효과를 보여준다. 예외적으로는 4n과 5n의 관계이며 그 효과는 거의 같다. 위의 결과를 보면 유도체 4의 경우 단 한

Table II - Inhibition of LPS-induced* NO production by 4 and 5

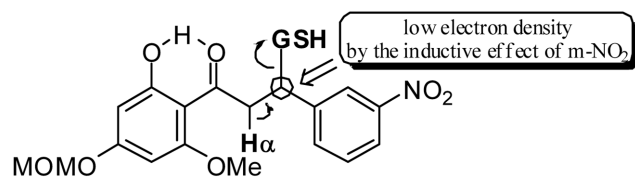
Compound	μM				
	0.2	1.0	5.0	10	20
TMMC	-	0.90999	0.488412	-	0.114636
4a	-	0.705321	0.029751	-	toxicity
5a	-	-	0.838027	-	0.641541
4b	-	0.708444	0.033118	-	toxicity
5b	0.914061	0.529043	0.286556	-	toxicity
4c	-	-	0.846852	-	0.64939
4d	-	0.471061	0.065606	-	toxicity
5d	-	-	-	-	NA
4e	-	0.483990	0.044043	-	toxicity
5e	0.945122	0.918096	0.800602	-	0.655308
5f	-	-	-	-	NA
5g	-	-	-	-	NA
5h	-	0.449193	0.111268	-	toxicity
5i	-	-	0.927689	-	0.890244
5j	-	-	0.704373	-	0.286162
5k	0.859132	0.612485	0.021221	-	toxicity
5m	-	0.739796	0.086025	-	0.090137
4n	-	0.368471	0.163816	-	toxicity
5n	-	0.374911	0.081607	-	toxicity
5o	-	0.399155	0.063498	-	0.052573

*Nitrite (NO₂) levels indicate levels of NO production. RAW 264.7 cells (5 × 10⁵ cells) were cultured with the test drugs at 37°C for 1 h before stimulation with LPS (1 mg/ml).

가지 경우(4n)만을 제외하고 어떤 위치에 치환기가 있어도 좋은 효과를 보여주었다. 이론적으로 유도체 5가 유도체 4에 비해 낮은 효과를 보여줄 근거는 없기 때문에 이에 대한 이론적 근거를 마련하기는 무척 어렵다. 현재로서 짐작할 수 있는 것은 NO production 저해 활성을 측정할 때 몇몇 유도체의 경우 특히 유도체 5 시리즈의 경우 DMSO나 물에 대한 용해도가 떨어져서 저해활성 효과가 낮게 나타났을 가능성이 크다는 것이다. Phenol 그룹의 수가 하나 더 많은 유도체 5의 물에 대한 용해도가 높을 것으로 예상했으나 실제 실험에서는 그렇지 않았다.

B ring에 meta-NO₂ 그룹이 있는 4c의 경우 유도체 4 시리즈 중 가장 낮은 활성을 보여주었는데 이를 화학적 특성으로 설명을 한다면 2'-OH와 keto 그룹 간의 수소결합으로 인해 α-hydrogen의 산성도가 높아지고 meta-NO₂ 그룹으로 인해 GSH adduct의 β위치에 전자밀도가 낮아져서 GSH adduct의 안정성이 낮아진 것으로 보인다(Fig. 3).

Meta-NO₂ 그룹이 있는 4c를 제외하고는 2'-OH를 가진 경우 B ring의 치환기 패턴에 관계 없이 좋은 효과를 보여주고 있다.

Fig. 3 - Role of meta-NO₂ in the stability of GSH adduct.

이는 결론적으로 B ring의 치환기 패턴에 비해 A ring의 2'-OH가 존재할 경우 케톤 그룹과의 수소결합에 의한 GSH의 Michael addition의 반응성 증가가 항염증 효과에 더욱 효과적이었음을 보여주는 것이다.

본 연구는 찰콘의 항염증 효과를 예측하는데 있어서 A 고리의 2'-하이드록시의 존재가 어떤 역할을 하는지 보기 위해 수행되었다. 19개의 유도체를 합성하여 측정된 결과 2'-하이드록시의 존재는 필수적이며 2',4'-다이하이드록시찰콘이 2'-하이드록시찰콘에 비해 동등하거나 효과가 떨어지는 것으로 보아 2'과 4' 위치에 동시에 하이드록시기가 존재할 필요는 없을 것으로 추정된다. 세 번에 걸친 연구를 통해 찰콘의 치환기 패턴과 항염증 효과를 연결할 수 있는 화학적 지식이 축적되었으며 이러한 지식을 토대로 기존의 찰콘의 치환기 패턴을 바꾼 것이 아닌 새로운 골격의 유도체를 발견하기 위한 연구가 진행 중에 있다.

감사의 말씀

이 논문은 2009년 원광대학교 교비 지원에 의해서 수행되었고 이에 감사드립니다.

참고문헌

- 1) Callister, C. A., Le Bail, J. C., Trouilas, P., Pouget, C., Habrioux, G., Chulia, A. J. and Duroux, J. L. : Chalcones: Structural requirements for antioxidant, estrogenic and antiproliferative activities. *Anticancer Res.* **21**, 3949 (2001).
- 2) Anto, R. J., Sukumara, K., Kuttan, G., Rao, M. N., Subbaraju, V. and Kuttan, R. : Anticancer and antioxidant activity of synthetic chalcones and related compounds. *Cancer Lett.* **97**, 33 (1995).
- 3) De Vincenzo, R., Ferlini, C., Distefano, M., Gaggini, C., Riva, A., Bombardelli, E., Morazzoni, P., Valenti, P., Belluti, F., Ranelletti, F. O., Mancuso, S. and Scambia, G. : *In vitro* evaluation of newly developed chalcone analogues in human cancer cells. *Cancer Chemother. Pharmacol.* **46**, 305 (2000).
- 4) Edwards, M. L., Stemerick, D. M. and Sunkara, P. S. : Chalcones: A new class of antimetabolic agents. *J. Med. Chem.* **33**, 1948 (1990).
- 5) Ko, H. H., Tsao, L. T., Yu, K. L., Liu, C. T., Wang, J. P. and Lin,

- C. N. : Structure-activity relationship studies on chalcone derivatives-the potent inhibition of chemical mediators release. *J. Med. Chem.* **46**, 2813 (2003).
- 6) Nam, N.-H., Kim, Y., You, Y.-J., Hong, D.-H., Kim, H.-M. and Ahn, B.-Z. : Cytotoxic 2',5'-dihydroxychalcones with unexpected antiangiogenic activity. *Eur. J. Med. Chem.* **38**, 179 (2003).
- 7) (a) Rojas, J., Dominguez, J. N., Charris, J. E., Lobo, G., Pay, M. and Ferrndiz, M. L. : Synthesis and inhibitory activity of dimethylamino-chalcone derivatives on the induction of nitric oxide synthase. *Eur. J. Med. Chem.* **37**, 699 (2002). (b) Won, S. J., Liu, C.T., Tsao, L. T., Weng, J. R., Ko, H. H., Wang, J. P. and Lin, C. N. : Synthetic chalcones as potential anti-inflammatory and cancer chemopreventive agents. *Eur. J. Med. Chem.* **40**, 103 (2005).
- 8) Sabzevari, O., Galati, G., Moridani, M. Y., Siraki, A. and O'Brien, P. J. : Molecular cytotoxic mechanisms of anticancer hydroxychalcones. *Chem. Biol. Interact.* **148**, 57 (2004).
- 9) Jin, F., Jin, X. Y., Jin, Y. L., Sohn, D. W., Kim, S.-A., Sohn, D. H., Kim, Y. C. and Kim, H. S. : Structural requirements of 2',4',6'-tris(methoxymethoxy)chalcone derivatives for anti-inflammatory activity: The importance of a 2'-hydroxy moiety. *Arch. Pharm. Res.* **30**, 1359 (2007).
- 10) (a) Lee, S. H., Seo, G. S., Kim, H. S., Woo, S. W., Ko, G. and Sohn, D. H. : 2',4',6'-Tri(methoxymethoxy)chalcone attenuates hepatic stellate cell proliferation by a heme oxygenase-dependent pathway. *Biochem. Pharmacol.* **72**, 1322 (2006). (b) Lee, S. H., Seo, G. S., Kim, J. Y., Jin, X. Y., Kim, H. D. and Sohn, D. H. : Heme oxygenase-1 mediates anti-inflammatory effects of 2',4',6'-tris(methoxymethoxy) chalcone. *Eur. J. Pharmacol.* **532**, 178 (2006).
- 11) Jin, F., Jin, X. Y., Jin, Y. L., Sohn, D. W., Kim, S.-A., Sohn, D. H., Kim, Y. C. and Kim, H. S. : Structural requirements of 2',4',6'-tris(methoxymethoxy)chalcone derivatives for anti-inflammatory activity: The importance of a 2'-hydroxy moiety. *Arch. Pharm. Res.* **30**, 1359 (2007).
- 12) Jin, Y. L., Jin, X. Y., Jin, F., Sohn, D. H. and Kim, H. S. : Structure activity relationship studies of anti-inflammatory TMMC derivatives: 4-dimethylamino group on the B ring responsible for lowering the potency. *Arch. Pharm. Res.* **31**, 1145 (2008).