ISSN 0377-9556 (PRINT) ISSN 2383-9457 (ONLINE)
약학회지 제 59 권 제 2 호 55~58 (2015)
Yakhak Hoeji Vol. 59, No. 2
DOI 10.17480/psk.2015.59.2.55

藥學會誌

N-아릴-3-페닐프로판아마이드 유도체 합성 및 NF-κB 저해 활성

최민호 · 김영수 · 정재경 · 이희순#
충북대학교 약학대학
(Received February 12, 2015; Revised March 5, 2015; Accepted March 6, 2015)

Synthesis and NF-κB Inhibitory Activities of *N*-Substituted-aryl-3-phenylpropanamide Derivatives

Minho Choi, Youngsoo Kim, Jae-Kyung Jung and Heesoon Lee#
College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 362-763, Korea

Abstract — A series of *N*-substitutedaryl-3-phenylpropanamide derivatives were synthesized and their inhibitory activities on LPS-induced NF-κB transcriptional activity on RAW 264.7 cells were evaluated. Cl substituted derivatives (**1e**, **1f**) have shown more potent activities than parent hit compound **KL-1156**.

Keywords □ NF-κB, KL-1156, *N*-substitutedaryl-3-phenylpropanamide derivatives

전사요소인 nuclear factor(NF)-κB는 거의 모든 동물 세포에서 발견되고, 스트레스, 사이토카인, 활성산소, 자외선, 산화된 LDL 및 세균 또는 바이러스 항원 등의 자극에 의해 세포 반응에 참여하고 있다.[1] NF-κB는 보통 비활성형 상태로 세포질에 존재하지만 NF-κB가 활성화되면 핵 안으로 이동한다. 이동한 NF-κB는 DNA와 결합하여 면역반응, 성장 그리고 염증을 조절하는 유전자를 발현한다.[2] NF-κB의 활성은 세포의 생존과 증식에 필수적이며,[3,4] 여러 carcinogen[5]과 tumor promoter[6]들에 의해 NF-κB가 활성되는 것으로 알려져 있다. 특히 종양 세포에서 NF-κB가 지속적으로 발현되고 있으며 암세포의 다른 조직으로 침투, 혈관 신생에 필요한 유전자를 발현하는 데에도 NF-κB가 관여된다고 보고되었다.[7,8] 저자 등은 크로만(Chromane) 유도체인 **KL-1156**이 NF-κB가 핵 안으로 이동하는 과정을 차단함으로써 NF-κB의 활성을 억제하는 것으로 보고하였다.[9]

새로운 NF-κB 저해제 개발의 일환으로 크로만 골격에 치환기를 도입한 유도체[10-12] 인돌린 유도체,[13] 3,4-디하이드로-2*H*-벤조(*h*)크로멘 유도체[14]들을 **KL-1156**을 선도물질로 하여 합성하고 이들의 NF-κB 저해 활성을 보고한 바 있다. 본 논문에서는 구조-활성 관계의 확장 차원으로 **KL-1156**의 구조를 단순화 시킨 신규 페닐프로판아마이드 유도체의 합성과 이들의 NF-κB 저해 활성을 보고하고자한다(Fig. 1). 구조 변형에 있어 주요사항은 **KL-1156** 구조 중 하이드록시와 메톡시 치환기를 제거하고 크로만 고리에서 탄소 두 개를 제거하여 고리를 단순화하고 산소를 탄소로 변형한 후 질소에 다양한 치환기를 갖는 페닐기를 치환한 아마이드 유도체를 합성하여 이들에 대한 NF-κB 저해 활성을 측정하였다.

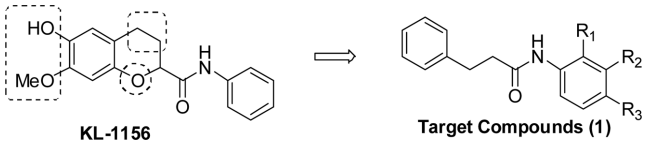


Fig. 1 – Structure of KL-1156 and *N*-aryl-3-phenylpropanamide derivatives.

실험방법

IR(Infrared) spectra는 Jasco FT/IR 300E를 사용하여 측정하였으며 cm^{-1}으로 나타내었다. ^1H NMR spectra는 Bruker DPS300 Spectrometer로 측정하였으며 chemical shift는 ppm

#**Corresponding Author**
Heesoon Lee
College of Pharmacy, Chungbuk National University, Cheongju 362-763, Korea
Tel.: 043-261-2811 Fax.: 043-268-2732
E-mail: medchem@chungbuk.ac.kr

(parts per million)으로, coupling constant는 Hz(hertz)로 나타내었다. Melting point는 open capillary를 사용하여 Electrothermal IA 9100 digital melting point apparatus로 측정하였다. Column chromatography용 silica gel(230~400 mesh, Merk)를 사용하였고 TLC(Thin Layer Chromatography)는 Kieselgel 60 F_{254} plate (Merk)를 사용하였다. 본 실험에서 사용한 시약과 용매는 부차적인 정제과정을 거치지 않고 사용하였으며 시판품을 이용하였다.

Amide의 일반적 합성법

3-페닐프로파노익산(**2**)을 무수 tetrahydrofuran(5 m*l*)에 녹인 후 CDI(*N,N'*-carbonydiimidazole)(1.5 eq.)를 넣는다. 1시간 실온 반응 후 치환된 아닐린(1.0 eq.)을 넣고 실온, 질소 기류 하에서 12시간 교반하였다. 그리고 난 후 감압 농축하고 물을 넣고 6*N*-HCl을 사용하여 pH 3~4로 적정한 후 CH_2Cl_2로 추출하였다. Na_2SO_4로 수분을 제거한 뒤 감압 농축하여 flash 컬럼 크로마토그래피로 정제하여 원하는 생성물을 얻었다.

***N*-(2-Methylphenyl)-3-phenylpropanamide (1a)** – 수율: 87%; m.p. 117~118°C; IR(KBr) 3288, 1604, 1496, 1194 cm^{-1}, ^1H NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.49(d, 1 H, *J*=7.5 Hz, Ar-H), 7.33(t, 2H, *J*=7.2 Hz, Ar-H), 7.25(m, 3H, Ar-H), 7.11(m, 3H, Ar-H), 3.02(t, 2H, *J*=7.6 Hz, Ar-CH_2), 2.66(t, 2H, J=7.6 Hz, CH_2-CO-NH), 2.07(s, 3H, Ar-CH_3).

***N*-(3-Methylphenyl)-3-phenylpropanamide (1b)** – 수율: 80%; m.p. 77~78°C; IR(KBr) 3294, 1651, 1538, 1141 cm^{-1}; ^1H NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.42(s, 1H, Ar-H), 7.37(d, 1H, *J*=7.5 Hz, Ar-H), 7.32(t, 2H, *J*=7.5 Hz, Ar-H), 7.26(t, 1H, *J*=7.5 Hz, Ar-H), 7.21(m, 3H, Ar-H), 6.97(d, 1H, *J*=7.5 Hz, Ar-H), 3.07(t, 2H, *J*=7.8 Hz, Ar-CH_2), 2.70(t, 2H, *J*=7.8 Hz, CH_2-CO-NH), 2.34(s, 3H, Ar-CH_3).

***N*-(4-methylphenyl)-3-phenylpropanamide (1c)** – 수율; 81%; m.p. 106~108°C; IR(KBr) 3299, 1653, 1522, 1113 cm^{-1}; ^1H NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.35(d, 2H, *J*=8.2 Hz, Ar-H), 7.31(t, 2H, *J*=7.8 Hz, Ar-H), 7.25(m, 3H, Ar-H), 7.11(d, 2H, *J*=8.2 Hz, Ar-H), 3.05(t, 2H, *J*=7.7 Hz, Ar-CH_2), 2.65(t, 2H, *J*=7.7 Hz, CH_2-CO-NH), 2.33(s, 3H, Ar-CH_3).

***N*-(2-chlorophenyl)-3-phenylpropanamide (1d)** – 수율: 65%; IR(neat) 3276, 1658, 1526, 1187 cm^{-1}; ^1H NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.37(d, 1H, *J*=7.8 Hz, Ar-H), 7.36(m, 3H, Ar-H), 7.27(m, 4H, Ar-H), 7.05(t, 1H, *J*=7.8 Hz, Ar-H), 3.11(t, 2H, *J*=7.7 Hz, Ar-CH_2), 2.77(t, 2H, *J*=7.7 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(3-chlorophenyl)-3-phenylpropanamide (1e)** – 수율: 42%; IR(neat) 3290, 1656, 1528, 1234 cm^{-1}; ^1H NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.63(s, 1H, Ar-H), 7.31(m, 3H, Ar-H), 7.24(t, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 7.19(m, 3H, Ar-H), 6.48(d, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 3.04(t, 2H, *J*=7.7 Hz, Ar-CH_2), 2.69(t, 2H, *J*=7.7 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(4-chlorophenyl)-3-phenylpropanamide (1f)** – 수율: 50%; IR(neat) 3296, 1656, 1521, 1245, 695 cm^{-1}; ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.40(d, 2H, *J*=8.0 Hz, Ar-H), 7.31(t, 1H, *J*=7.6 Hz, Ar-H), 7.23(m, 5H, Ar-H), 3.04(t, 2H, *J*=7.7 Hz, Ar-CH_2), 2.66(t, 2H, *J*=7.7 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(2-trifluoromethylphenyl)-3-phenylpropanamide (1g)** – 수율: 20%; IR(neat) 3265, 1655, 1523, 1119 cm^{-1}; ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.18(d, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 7.62(d, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 7.56(t, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 7.29(m, 6H, Ar-H), 3.10(t, 2H, *J*=7.7 Hz, Ar-CH_2), 2.75(t, 2H, *J*=7.7 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(3-trifluoromethylphenyl)-3-phenylpropanamide (1h)** – 수율: 33%; IR(neat) 3245, 1664, 1550, 1110 cm^{-1}; ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.77(S, 1H, Ar-H), 7.65(d, 1H, *J*=7.0 Hz, Ar-H), 7.29(m, 7H, Ar-H), 3.05(t, 2H, *J*=7.7 Hz, Ar-CH_2), 2.70(t, 2H, *J*=7.7 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(2-hydroxyphenyl)-3-phenylpropanamide (1i)** – 수율: 79%; IR(neat) 3350, 1685, 1528, 1140 cm^{-1}; ^1H NMR($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.10(d, 1H, *J*=7.7 Hz, Ar-H), 7.27(m, 6H, Ar-H), 7.03(m, 2H, Ar-H), 3.08(t, 2H, *J*=7.4 Hz, Ar-CH_2), 2.90(t, 2H, *J*=7.4 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(2-methoxyphenyl)-3-phenylpropanamide (1j)** – 수율: 70%; IR(neat) 3307, 1661, 1596, 1257, 1032 cm^{-1}; ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.39(d, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 7.21(m, 5H, Ar-H), 6.99(t, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 6.91(t, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 6.79(d, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 3.72(s, 3H, Ar-OCH_3), 3.01(t, 2H, *J*=7.8 Hz, Ar-CH_2), 2.65(t, 2H, *J*=7.8 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(3-methoxyphenyl)-3-phenylpropanamide (1k)** – 수율: 73%; IR(neat) 3312, 1651, 1596, 1223, 1038 cm^{-1}; ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.41(s, 1H, Ar-H), 7.32(t, 2H, *J*=7.4 Hz, Ar-H), 7.24(m, 5H, Ar-H), 6.73(d, 1H, *J*=7.9 Hz, Ar-H), 3.74 (s, 3H, Ar-OCH_3), 3.06(t, 2H, *J*=7.8 Hz, Ar-CH_2), 2.75(t, 2H, *J*=7.8 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(4-methoxyphenyl)-3-phenylpropanamide (1l)** – 수율: 85%; IR(neat) 3284, 1650, 1543, 1241, 1032 cm^{-1}; ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 7.39(d, 2H, *J*=7.5 Hz, Ar-H), 7.28(m, 5H, Ar-H), 6.82(d, 2H, *J*=7.5 Hz, Ar-H), 3.78(s, 3H, Ar-OCH_3), 3.03(t, 2H, *J*=7.8 Hz, Ar-CH_2), 2.65(t, 2H, *J*=7.8 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(2-nitrophenyl)-3-phenylpropanamide (1m)** – 수율: 43%; IR(neat) 3285, 1666, 1515, 1359, 717 cm^{-1}; ^1H NMR

($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.81(d, 1H, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 8.18(d, 1H, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 7.63(t, 1H, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 7.29(m, 5H, Ar-H), 7.16(t, 1H, *J*=8.5 Hz, Ar-H), 3.12(t, 3H, *J*=7.7 Hz, Ar-CH_2), 2.84(t, 2H, *J*=7.7 Hz, CH_2-CO-NH).

***N*-(3-nitrophenyl)-3-phenylpropanamide (1n)** – 수율: 56%; IR(neat) 3284, 1694, 1520, 1344, 700 cm^{-1}; ^1H NMR ($CDCl_3$, 500 MHz) δ 8.41(s, 1H, Ar-H), 7.90(d, 1H, *J*=8.2 Hz, Ar-H), 7.40(t, 1H, *J*=8.2 Hz, Ar-H), 7.27(m, 6H, Ar-H), 3.07 (t, 2H, *J*=7.7 Hz, Ar-CH_2), 2.77(t, 2H, *J*=7.7 Hz, CH_2-CO-NH).

실험결과 및 고찰

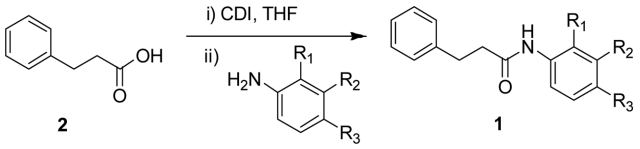
N-아릴-3-페닐프로판아마이드 유도체 표적 화합물(**1**)은 3-페닐프로파노익산(**2**)과 다양한 치환기를 함유하는 아닐린을 커플링 시약으로 *N,N'*-carbonyldiimidazole(CDI)을 사용하여 목적하는 14종의 유도체(**1a**~**1n**)를 20~87%의 수율로 얻었다.

합성된 유도체들의 NF-κB 저해 활성을 확인하기위해 RAW 264.7 cell에 LPS(lipopolysaccharide)를 투여하여 30 mM에서의 % 억제 정도를 측정하였다(Table I). 대조물질로 사용한 **KL-1156**의 NF-κB 저해 활성 IC_{50} 값이 37.2 μM로 나타나 30 μM에서의 % NF-κB 활성 억제 정도를 측정하여 대조물질보다 우수한 활성을 나타내는 신규 화합물들을 찾고자 하였다.

메틸 치환기를 갖고 있는 유도체(**1a**~**1c**)들은 30 μM에서 각각 33, 45, 36%의 억제 활성을 나타내어 치환기 위치에 따른 억제 활성은 2번 위치와 4번 위치는 유사하였고 3번 위치가 가장 우수하였다. 클로로 치환기를 갖고 있는 유도체(**1d**~**1f**)들에서는 각각 38, 55, 69%의 억제 활성을 나타내어 4번 위치의 치환기가 가장 우수하였다. 메톡시 치환기를 갖고 있는 유도체(**1j**~**1l**)들에서는 각각 47, 33, 26%의 저해 활성을 나타내어 2번 위치의 치환기가 가장 우수한 저해 활성을 나타내었다. *N*-아릴치환기의 도입 위치에 따른 NF-κB 저해 활성은 치환기 종류에 따라 다른 경향을 나타내었다.

N-아릴 고리의 2번 위치에 도입된 치환기의 종류에 따른 NF-κB 저해 활성은 트리플루오로메틸 치환기를 갖고 있는 유도체 **1g**가 50% 저해 활성을 나타내어 가장 우수하였고 메톡시(**1j**)와 니트로(**1m**) 치환기는 각각 47과 45%의 유사한 저해 활성을 나타내었다. *N*-아릴 고리의 3번 위치에 도입된 치환기에 있어서는 클로로(**1e**)와 니트로(**1n**) 치환기를 갖고 있는 유도체가 각각 55, 52% 저해 활성을 나타내어 상대적으로 우수하였고 메틸(**1b**), 트리플루오로메틸(**1h**), 메톡시(**1k**) 치환기는 각각 45, 44, 33%의 저해 활성을 나타내었다. *N*-아릴 고리의 4번 위치에 도입된 치환기에 있어서는 클로로(**1f**) 치환기를 갖고 있는 유도체가 69% 저해 활성을 나타내어 가장 우수하였고 메틸(**1c**)과 메톡시(**1l**) 치환기는 각각 36과 26%의 낮은 저해 활성을 나타내었다. 치환기 종류에 따른 NF-κB 저해 활성은 클로로 치환기가 *N*-아릴치환기의 3번, 4번 위치 모두에서 가장 우수한 활성을 나타냈다는 사실 외에 일관된 저해 활성의 변화를 나타내지 않았다.

Table I – Inhibitory activity of *N*-substituted-aryl-3-phenylpropanamide derivatives on NF-κB activation



	R_1	R_2	R_3	% inhibition at 30 μM
1a	Me	H	H	33.0
1b	H	Me	H	45.0
1c	H	H	Me	36.0
1d	Cl	H	H	38.0
1e	H	Cl	H	55.0
1f	H	H	Cl	69.0
1g	CF_3	H	H	50.0
1h	H	CF_3	H	44.0
1i	OH	H	H	44.0
1j	OMe	H	H	47.0
1k	H	OMe	H	33.0
1l	H	H	OMe	26.0
1m	NO_2	H	H	45.0
1n	H	NO_2	H	52.0
KL-1156				IC_{50}: 37.2 μM

결 론

크로만 유도체인 **KL-1156**이 NF-κB의 핵 안으로의 translocation을 차단하여 활성을 억제하는 것이 밝혀진 이후 보다 우수한 NF-κB 저해 활성을 나타내는 신규 유도체들을 찾고자 확보한 구조-활성 상관관계 결과를 토대로 크로만 고리가 열려있는 단순화 전략의 유도체 *N*-치환아릴-3-페닐프로판아마이드 유도체 14종을 합성하였다. 합성된 유도체 14종에 대한 NF-κB % 저해 활성을 측정하였고 구조-활성 상관관계를 살펴보았다. 이 결과는 우수한 활성을 지니는 *N*-아릴-3-페닐프로판아마이드계 NF-κB 저해제의 개발에 이용될 수 있을 것으로 기대된다.

감사의 말씀

이 논문은 2013년도 충북대학교 학술연구지원사업의 연구비 지원에 의하여 연구되었고 이에 감사드립니다.

References

1) Mohammad, Y., Samina, F., Zorawar, S. and Sheikh, S. : Plant

derived polyphenols, other drugs targeting NF-κB and its therapeutic implications. *British Biomedical Bulletin* **2**, 422 (2014).

2) Beg, A. A. and Baltimoore, D. : An essential role for NF-κB in preventing TNF-alpha-induced cell death. *Science* **274**, 782 (1996).
3) Wu, M. and Lee, H. : Inhibition of NF-kappaB/ReI induces apoptosis of murine B cells. *EMBO J.* **15**, 4682 (1996).
4) Wang, C. Y., Mayo, M. W. and Baldwin, Jr. A. S. : TNF and cancer therapy-induced apoptosis. *Science* **274**, 784 (1996).
5) Rioux, N. and Castonguay, A. : The induction of cyclooxygenase-1 by a tobacco carcinogen in U937 human macrophages is correlated to the activation of NF-kappaB. *Carcinogenesis* **21**, 1745 (2000).
6) Kabrun, N. and Enrietto, P. J. : The Rel family of proteins in oncogenesis and differentiation. *Semin. Cancer Biol.* **5**, 103 (1994).
7) Nasi, S., Ciarapica, R. and Rosati, J. : Makeing decisions through *Myc*. *FEBS Lett.* **490**, 153 (2001).
8) Slawin, K., Kadmon, D., Park, S. H. and Sporn, M. B. : Dietary fenretinide, a synthetic retinoid, decreases the tumor incidence and the tumor mass of ras+myc-induced carcinomas in the mouse prostate reconstitution model system. *Cancer Res.* **53**, 4461 (1993).
9) Kim, B. H., Reddy, A. M., Lee, K. H., Chung, E. Y., Cho, S. M., Lee, H., Min, K. R. and Kim, Y. : Inhibitory mechanism of chroman compound on LPS-induced nitric oxide production and nuclear factor-kappaB activation. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **325**, 223 (2004).
10) Kwak, J. H., Kim, B. H., Jung, J K., Kim, Y., Cho, J. and Lee, H. : Structure-activity relationships of 6-hydroxy-7-methoxy-chroman-2-carboxylic acid *N*-(substituted)phenylamides as inhibitors of nuclear factor-κB (NF-κB) actication. *Arch. Pharm. Res.* **30**, 1210 (2007).
11) Kwak, J. H., Won, S. W., Kim, T. J., Roh, E., Kang, H. K., Lee, H. W., Jung, J. K., Hwang, B. H., Kim, Y. S., Cho, J. and Lee, H. S. : Synthesis of chroman-2-carboxylic acid *N*-(substituted) phenylamide and inhibitory effect on nuclear factor-κB (NF-κB) actication. *Arch. Pharm. Res.* **31**, 133 (2008).
12) Kim, T. J., Kwak, J. H., Kim, Y., Jung, J. K. and Lee, H. : Structure-activity relationships of methylchroman-2-carboxylic acid N-(disubstituted)phenylamide derivatives as potential NF-κB inhibitors. *Yakhak Hoeji* **55**, 154 (2011).
13) Kwak, J. H., Kim, Y., Pack, H., Jung, J. Y., Lee, K. K., Yi, W., Kwak, J. A., Park, S. G., Kim, H., Lee, K., Kang, J. S., Han, S. B., Hwang, O. Y., Hong, J. T., Jung, J. K., Kim, Y., Cho, J. and Lee, H. : Structure-activity relationship of indoline-2-carboxylic acid *N*-(substituted)phenylamide derivatives. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **20**, 4620 (2010).
14) Choi, M., Hwang, Y. S., Arepalli, S. K., Jo, H., Jeong, Y., Oh, Y., Lee, J., Yun, J., Kim, Y., Han, S., Jung, J. K., Cho, J. and Lee, H. : Design and synthesis of 3,4-dihydro-2H-benzo[h]chromene derivatives as potential NF-κB inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **24**, 2404 (2014).