

1-(2-furyl)-3-phenylpropenone 유도체의 DNA Topoisomerase I 저해활성에 대한 parameter focusing

명평근[#] · 최수라 · 성낙도^{*}

충남대학교 약학대학 약학과, *충남대학교 농과대학 응용생물화학부

(Received May 29, 2000)

Parameter Focusing on the Topoisomerase I-inhibition Activities of 1-(2-furyl)-3-phenylpropenone Derivatives

Pyung-Keun Myung[#], Su-La Choi and Nack-Do Sung^{*}

College of Pharmacy, Chungnam National University, 305-764, Korea

^{*}Division of Applied Biology & Chemistry, College of Agriculture,
Chungnam National University, 305-764, Korea

Abstract — Parameter focusing on the DNA topoisomerase-I inhibition with X-substituted phenyl substituents in 1-(2-furyl)-3-phenylpropenone derivatives as inhibition material were analyzed. From the basis on the results, the inhibition on DNA topoisomerase I suggested that the inhibition activities of X-substituted phenyl substituents would depend largely on the net charge of β -carbon atom, LUMO energy (e.v.) and STERIMOL parameter, B_5 (width) of X. Among them, non-substituent (X=H), 1 and 2,2-dichloro substituent, 4 showed the highest DNA topoisomerase-I inhibition activity.

Keywords □ 1-(2-furyl)-3-phenylpropenones, DNA Topoisomerase-I Inhibition & parameter focusing.

비스 방향족 α , β -불포화 케톤체인 chalcone 유도체들은 FTPase 저해활성¹⁾과 식물성 병원균에 대한 살균활성^{2,3)} 등 뿐만 아니라, 세포독성⁴⁾ 검정을 거쳐 이 중 몇몇 화합물은 항종양제^{5,6)}로 이용되고 있으며 최근에는 이들 유사체들인 curcumin에 대한 항동맥경화 효과가 검토되기도 하였다.⁷⁾

본 연구에서는 DNA topoisomerase-I(EC. 5.55.1.2) (Topo. I)에 의하여 DNA를 일시적으로 절단하고 재결합시켜 DNA의 복제와 RNA 전사시에 circular DNA의 topographic 구조를 유지하거나 replication fork의 비틀린 장력을 낮추기 위한 필수적인 요구를 저해⁸⁾하므로써 항암작용을 나타내는 화합물을 탐색하기 위한 시도의 일환으로 chalcone유사체인 1-(2-furyl)-3-(substituted-phenyl)propenone 유도체들의 구조(Fig. 1)변

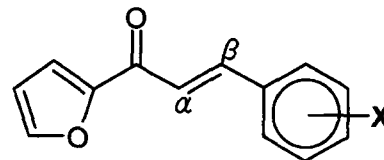


Fig. 1 — General structure of E (anti.) 1-(2-furyl)-3-(Substituted-phenyl)propen-one derivatives.

화에 따른 Topo. I저해활성에 관여하는 parameter focusing⁹⁾을 검토하였다.

실험 및 방법

DNA Topoisomerase-I 활성측정¹⁰⁾ — 효소 활성은 DNA unwinding assay를 사용하여 분석하였다. 송아지 흉선 DNA Topoisomerase-I(TOP0-I) 1 unit와 *E. coli* pBR322(TAKEDA Co. Ltd) 0.5 μ g을 시료 존재 또는 부재하에서, 72 mM KCl, 5 mM MgCl₂,

[#] 본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-821-5929 (팩스) 042-823-6566

Table I – Inhibition activities (IC₅₀, mM) on the DNA Topoisomerase-I of 1-(2-furyl)-3-phenylpropenones and used major physicochemical parameters in parameter focusing

No	X	IC ₅₀ ^a	σ ^b	C _β ^c	L ^d	B ₅ ^e	LUMO ^f
1	H	1.50 ± 0.42	0.00	0.007	2.06	1.00	-0.8751
2	2-Cl	4.50 ± 0.31	1.20	-0.006	3.52	1.80	-0.9872
3	4-Cl	3.60 ± 0.82	0.23	0.002	3.52	3.60	-1.0226
4	2,2-Cl ₂	1.46 ± 0.24	2.40 ^g	-0.027	7.04 ^g	1.95 ^g	-1.0743
5	2-Br	2.28 ± 0.28	1.10	-0.004	3.82	1.95	-1.0126
6	2-F	1.77 ± 0.92	1.20	0.004	2.65	1.35	-1.0290
7	4-F	1.97 ± 0.12	0.06	0.003	2.65	1.35	-1.0536
8	2,2-F ₂	4.51 ± 0.28	2.40 ^g	-0.011	5.30 ^g	2.70 ^g	-1.1657
9	2-CH ₃	2.18 ± 0.20	-0.12	0.003	2.87	2.04	-0.8626
10	3-NO ₂	2.00 ± 0.28	0.71	-0.028	3.44	2.44	1.7237

Camptothecin 6.2 × 10⁻³

^a50% Inhibition concentration, ^bSubstituent constants of substituted phenyl group, ^cNet charge of β-carbon atom., ^dSTERIMOL parameter, length (Å) of group., ^eWidth (Å) of group., ^fLowest unoccupied molecular orbital energy (e.v.), ^gValue.

5.0 mM dithiothreitol, 5 mM spermidine 그리고 0.01% bovine serum albumin이 포함된 20 μL 5 mM Tris-HCl(pH 8.0)에서 37°C에서 30분간 배양하였다. 반응은 2% glycerol, 2% sodium dodecyl sulfate(SDS), 0.05% bromophenol blue로 이루어진 stop solution 5 μL를 가하여 종결시켰다. 전기영동은 TBE buffer(50 mM Tris base, 50 mM boric acid and 2.5 mM EDTA) 상에서 1% agarose gel plate를 사용하여 전개 시켰다. 전기영동 후에 0.5 μg/mL ethidium bromide solution을 사용하여 gel plate를 염색하였다. IC₅₀ 값은 supercoiled pBR322 DNA의 relaxation을 50% 억제하는 농도로 정하였으며, 각각의 실험에서 양성 대조군은 camptothecin(CPT)을 사용하였다. 그리고 효소 저해제로는 염기 촉매하에서 2-acetylurane과 X-치환 benzaldehyde를 반응시켜 합성한 1-(2-furyl)-3-(substituted-phenyl)propenone 유도체³⁾이었다.

Parameter focusing – 저해제들의 구조변화에 따른 활성과의 관계를 알아보기 위하여 필요한 물리-화학 파라미터 중 소수성 (π)상수는 CLOGP 프로그램¹¹⁾ (Ver. 3.53)으로 그리고 α, β탄소 원자의 알짜전하와 HOMO 및 LUMO 에너지(e.v.)는 PM3 방법¹²⁾으로 계산하여 저해활성 값 (mM)과 함께 Table I에 정리 하였다.

실험결과 및 고찰

Camptothecin과 그의 유도체만이 유일하게 알려져

있는 Topo. I 저해제를 탐색하기 위하여 E(anti.)형으로 존재하는 1-(2-furyl)-3-(substituted-phenyl)propenone 유도체들의 Topo. I에 대한 저해활성(IC₅₀) 결과 (Table I), 대조물질인 camptothecin(IC₅₀=6.25 μM)에 비하여 기질물질이 240~720 배 이상 약하지만, α, β-불포화 케톤 골격을 갖는 화합물들의 치환기 변화에 따른 topoisomerase-1에 대한 저해활성과의 관계를 검토하고자 저해활성에 미치는 parameter focusing을 시도하였다.

치환기 X가 저해활성에 미치는 영향을 알아보기 위하여 치환체 별, IC₅₀값과 입체상수인 Es와 STERIMOL 파라미터(L, B₁ 및 B₅)를 위시하여 전자효과 상수인 HOMO, LUMO 에너지(e.v.), α, β-불포화 탄소원자의 알짜전하(Cα 및 Cβ), σ, Swain-Lupton의 장 및 공명효과(F와 R), MR상수와 소수성 상수 (π)들의 조합으로 구성된 물리-화학 파라미터들에 대한 parameter focusing을 모두 검토하였다.⁹⁾ 그 결과, LUMO 에너지와 B₅상수 사이에서 비교적 높은 활성(IC₅₀=1.46~1.77)을 보이는 1, 4, 및 6 등 3개의 치환체들로 공간 상에 무리를 이루는 parameter focusing을 Fig. 2에 나타내었다. 이에 따르면 LUMO 에너지는 -0.8750~-1.0300 e.v. 그리고 X의 B₅상수는 1.00~1.35Å 범위의 값을 갖는 치환체가 높은 저해활성을 보일 것으로 예상 되었다. 그러나 이들 값 범위의 상수를 가지나 활성이 낮은 치환체는 LUMO와 B₅상수 이외의 파라미터가 저해활성에 기여하는 것으로 설명되어야 할 것이다.

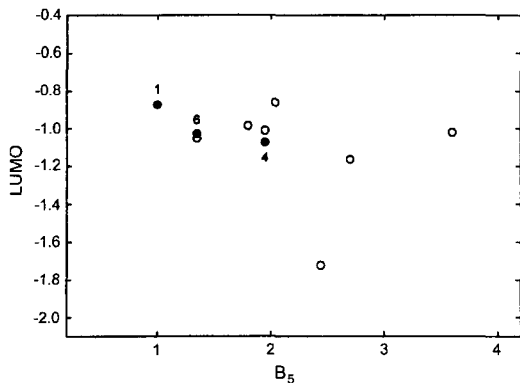


Fig. 2 - Parameter focusing between LUMO energy (e.v.) and width (B_5) constant in inhibition activity of 1-(2-furyl)-3-(X-phenyl)propanone derivatives against DNA topoisomeras I. (●: Active compound).

Parameter focusing 검토 과정에서 $C\alpha$ 와 $C\beta$ 의 알짜전하 사이에는 X가 전자를 끌수록 $C\alpha$ 의 음하전은 감소한 반면에 $C\beta$ 의 양전하는 증가하는 반비례 관계를 나타내었다. 이는 X의 전자 수수관계에 따라 $C\alpha$ 에는 공명효과 그리고 $C\beta$ 에는 유도효과¹³⁾가 영향을 미치므로서 phenyl-기내의 공명 상호작용으로 증가된 편재화가 공존하여 carbonyl-기가 쿨주게이션 효과를 부분적으로 가로막는 역할을 하기 때문으로 설명된다. 그리고 전자수수 관계에 따른 치환기의 영향($\sigma = -71.308 (\pm 57.15)C\alpha - 111.55 (\pm 56.83)C\beta - 16.00 (\pm 13.35)$, $n=10$, $s=0.76$, $F=3.40$ 및 $r=0.72$)은 $C\alpha$ 보다 $C\beta$ 에 더 크게 미쳤다. 또한, X의 L과 B_1 사이에는 비례관계에 있음을 알았으며 비교적 높은 저해활성을 나타내는 화합물 중에서 2,2-dichloro-치환체, 4를 제외한 나머지 치환체들은 $B_1=1.0\sim 1.5\text{\AA}$ 과 $L=2.0\sim 3.0\text{\AA}$ 범위의 값을 보였다.

한편, 치환체 별 저해활성과 물리-화학 파라미터 사이의 correlation matrix로 부터 독립적인 관계에 있는 구조-활성 관계(SAR)¹⁴⁾식들을 검토하였다. 그 결과, 1차식의 변수로는 $B_5 > R > \sigma$ 의 순으로 B_5 가 저해활성에 제일 큰 영향을 미친다는 사실을 알았다. 2차식으로는 $C\alpha$ 보다 $C\beta$ 의 알짜전하를 변수로 한 식이 현저하게 높은 상관성($r=C\beta \gg C\alpha$)을 보였다. 예컨대 다음 식($IC_{50} = -8240.44(C\beta + 0.0113)2 + 1.77$, $n=10$, $s=4.05$, $F=6.45$ 및 $r=0.82$)으로 저해활성의 변이 중 약 67% ($100r^2$)를 설명할 수 있었으며 적정값은 $(C\beta)_{opt.} = -0.0113$ 이었다. 그러므로 나머지 ($1-r^2$) 33%는 입체

효과와 소수성 등이 저해활성에 기여하게 될 것이다. 왜냐하면, 생물활성은 소수성과 입체효과 그리고 전자 효과 등 3가지 주된 성질의 선형함수로 가정되었기 때문이다. 따라서 이 적정값을 벗어날 수록 저해활성이 증가하므로 X의 전자 수수관계와는 비례하지 않을 것임을 잘 설명하고 있다.

Parameter focusing(Fig. 2)에서 높은 저해활성이 LUMO 에너지에 의존적이었다는 사실은 이들 유도체들의 가수분해³⁾ 반응에서와 같이 평면(E. anti.) 구조상 mesomeric effect의 영향으로 양하전이 증가된 저해체의 $C\beta$ 에 Topo. I의 음하전을 띄는 반응 중심이 전자 친화력에 따른 Michael형의 친핵성 첨가반응으로 저해활성이 일어나는 것으로 추측된다. 이들 저해체들의 가수분해 반감기 ($t_{1/2}$)는 전자 끌기에 의한 전달효과($\sigma > 0$)가 제일 크게 작용($\log T_{1/2} = 0.82\sigma + 4.75$, $r=0.95$)³⁾ 하였으며 이와 같은 반응 속도론적인 파라미터는 효소 반응의 촉매단계에서 치환기의 전자적 성질을 이해하는데 기여한다. 또한, $C\alpha$ 의 알짜전하에 대한 2차식은 상관성이 좋지 않았으며($r=0.50$) X의 위치에 따른 영향은 뚜렷하지 않았다. 그리고 chalcone 유도체들의 인체종양 세포에 대한 독성시험⁴⁾을 제외한 farnesyl protein transferase 저해활성이나¹⁾ 식물성 병원균에 대한 살균활성은^{2,3)} 모두 비 치환체($X=H$)가 제일 활성이 컸으며 여기에서도 예외가 아님($X=H$, $IC_{50} = 1.50 \pm 0.42$ mM)을 알 수 있었다.

이상과 같은 검토 결과로 부터 acylshikonin 유도체인 6-(1-acyloxyalkyl)-5,8-(dialkoxy)-1,4-naphthoquinone의 Topo. I저해활성에서 예측되었던 바와 같이¹⁵⁾ 1-(2-furyl)-3-(substituted phenyl)propanone 유도체의 경우에도 저해활성이 B_5 상수에 의존적이므로 Topo. I의 반응 중심은 아마도 타원형에 가까운 위상을 갖는 것으로 추정된다. 그리고 $C\beta$ 의 알짜전하와 전자 친화력에 대응하는 LUMO에너지(-0.8750~-1.0300 e.v.) 및 X의 B_5 상수(1.00~1.35Å)가 높은 저해활성을 나타내는 요소 일 것으로 예상 되었다. 따라서 보다 높은 저해활성을 나타내는 화합물을 탐색하기 위하여는 이들 범위의 상수값을 갖는 또다른 치환체들의 Topo. I저해활성에 대한 조건들이 재 검토되어야 하겠다.

문 헌

- 1) Myung, P. K., Sung, N. D., Yu, S. J., Kwon, B. M. and

- Lee, S. H. : Inhibition of farnesyl transferase inhibition activity of chalcone derivatives, *Kor. J. Agri. Chem.*, **42**, 252 (1999).
- 2) Myung, P. K., Sung, N. D., Yu, S. J., Kwon, B. M. and Lee, S. H. : Influence of substituted phenyl backbone on the fungicidal activity of 2-thienyl and 2-furyl substituents in bis-aromatic α , β -unsaturated ketone derivatives, *Kor. J. Pestic. Sci.*, **2**, 22 (1998).
- 3) Sung, N. D., Kang, H. D., Maeng, J. Y. and Shin, D. R. : Fungicidal activity of 3-(X-sub.phenyl)-1-(2-furyl) propenone derivatives, *Agri. Chem., Biotech.*, **37**, 287 (1994).
- 4) Sung, N. D., Yu, S. J., Choi, S. U., Kwon, B. M. and Lee, C. D. : The cytotoxicity of 1,3-diphenylpropene derivatives, *Kor. J. Agri. Chem.*, **42**, 68 (1999).
- 5) 紫田承二, 求田信草, 岩田進, 西野剛史, 抗腫瘍濟, 日本特許出願公開番號, 6-122623 (1994).
- 6) Goldin, A., Serpick, A. A. and Mantel, N. : Experimental screening procedures and clinicals predictably value. *Cancer. Chemoth.* **50**, 190 (1996).
- 7) Kim, T. G., Kim, H. E., Kang, S. Y., Jung, K. K., Park, Y. B., Choi, M. S., Lee, H. S. and Han, H. M. : Antimatherogenic effects of curcumin in hypercholesterolemic rabbits, *Yakhak Hoeji*, **44**, 71 (2000).
- 8) Wang, H. K., Morris-Natschke, L. S. and Lee, K. H. : Recent advances in the discovery and development of topoisomerase inhibitors as antitumor agents, *Med. Res. Rev.*, **17**, 367 (1997).
- 9) Magee, P. S. : IUPAC Pesticide Chemistry, human welfare and the environment, Pergamon. Press, Oxford and New York., Vol. I, p.251 (1983).
- 10) Kim, Y., Choi, S. L., Myung, P. K. and Ahn, B. Z. : 6-(1-hydroxy or acyloxyalkyl)-5,8-dialkoxy-1,4-naphthoquinones:synthesis, evaluation of cytotoxic activity, antitumor activity and inhibitory effect on DNA Topoisomerase-I, *Yakhak Hoeji*, **44**, 141 (2000).
- 11) CLOGP Program (Ver. 3.53), LogP, Calculation algorithm, pomona college, Medicine chemistry project, claremont, CA.
- 12) Hyperchem (Ver. 4.0) Hyperchem. for windows, Ch. 7, Chemical calculation. Hypercube Inc., Ontario, Canada.
- 13) Solaniova. E., Toma., S. and Gronowitz, S. : Investigation of substituent effects of chalcones by C NMR Spectroscopy, *Org. Magn. Reson.* **8**, 439 (1976).
- 14) Hansch, C. and Leo A. : Exploring QSAR fundamental and applications in chemistry and biology. Ch. 9., ACS professional reference book. ACS, Washington. (1995).
- 15) Sung, N. D. and Myung, P. K. : Parameter focusing on the topoisomerase I inhibition activities of 6-(1-acyloxyalkyl)-5,8-dialkoxy-1,4-naphthoquinone derivatives, *Kor. Soc., Agri. Chem. & Biotech.*, **43**, in press.