

Benzothiazine-3-carboxamide 유도체의 합성과 COX-2 저해효과

신혜순[#] · 최희전 · 권순경

덕성여자대학교 약학대학

(Received November 1, 2002; Revised December 5, 2002)

Synthesis and COX-2 Inhibitory Activity of Benzothiazine-3-carboxamide Derivatives

Hea Soon Shin[#], Hee Jeon Choi and Soon Kyoung Kwon

College of Pharmacy, Duksung Women's University, Seoul 132-714, Korea

Abstract — In this study, newly designed COX-2 inhibitors, synthetic derivatives of benzothiazine-3-carboxamide, were screened *in vitro* for selectivity of COX-1 and COX-2 inhibition properties. 7-Bromo-1,2-benzothiazine derivatives were obtained from 4-bromotoluene over the chlorosulfonation, amination and oxidation. And benzothiazine ring was synthesized through Gabriel-Colmann rearrangement reaction. To evaluate inhibitory effect of COX-2, synthetic derivatives of benzothiazine-3-carboxamide were tested with accumulation of prostaglandin by lipopolysaccharide in aspirin-treated murine macrophage cell. Some of the synthesized lead compounds have potentially shown the structure-activity relationship for selectivity of COX-2 inhibition activity.

Keywords □ benzothiazine-3-carboxamide derivatives, cyclooxygenase-2 inhibitor

NSAID 약물들은 생체내 염증전달 반응에 중요한 역할을 하는 각종 프로스타글란딘의 생합성에 관여하는 효소 cyclooxygenase (COX)를 억제하는 것으로 알려져 있다.^{1,3)} 이러한 NSAID 약물들은 검증과정에서 일시적으로 발현이 증가하는 유도성 효소인 COX-2 외에 정상조직의 항상성 유지에 중요한 역할을 담당하는 COX-1까지도 억제함으로써 위장관 출혈등의 부작용을 유발하는 것으로 밝혀져 있다.⁴⁻⁷⁾ COX-2저해제로 최초 개발된 Celecoxib (Celebrex, Pfizer사)는 1998년에 FDA승인을 받았고, 후발주자인 Refecoxib(Vioxx, Merck & Co사)도 연이어 시판됨으로써 골관절염(osteoarthritis)과 류마티스성 관절염(rheumatoid arthritis) 등에 널리 사용되고 있다.^{8,9)} 이와 같은 연구동향에 맞추어 본 연구에서는 위점막세포 보호기능과 관련된 COX-1 보다는 염증유발과 관련이 있는 COX-2를 비교적 선택적으로 억제하며 NSAID 약물들의 대표적 부작용인 위장장애등을 현저히 감소시킬 뿐만 아니라 생체 내에서의 생물학적 반감기가 긴 oxicam 계열 화합물에 착안하였다.¹⁰⁻¹³⁾ COX-2를 선택적으로 저해한다고 보고된 piroxicam 구조의 모핵인 benzothiazine 환을 benzothiazine-3-carboxamide로 대체한 유도체로서 잠재적 항염효과가 기대되는

후보물질을 개발하고자 하였다. 또한, 선택적 구조를 지닌 새로운 COX-2 저해제 개발을 위한 후보물질의 항염활성을 검색하는 연구로서 COX-2 저해실험을 위한 murine macrophage RAW 264.7 세포주를 이용하여 실험실적 세포실험(*in vitro*)으로 평가하였다. 항염증 효과를 검색하는 방법으로는 약물들의 실험모델의 특성 및 처리조건에 따라 서로 다른 선택성의 결과를 나타낼 수 있겠으나 Lee 등의 실험방법에 따라^{14,15)} 우선, COX 효소가 발현되는 세포주에 bacterial lipopolysaccharide(LPS)를 처리 한 후 prostaglandin 합성량 변화를 비교하는 유도모델(induction model) 실험으로 효소저해 작용을 검색하였으며, 다음 arachidonic acid로 전처리한 활성모델(activity model) 실험으로서 COX-2 효소로 인한 prostaglandin E₂(PGE₂) 생합성 증가량을 정량하여 효소저해 활성도를 측정하였다. 즉, 선택적 구조특이성을 시도한 oxicam 계열의 benzothiazine-3-carboxamide 유도체들인 합성 NSAID 약물들을 대상으로 COX-2 효소저해 효과를 검색하여 화합물의 구조와 생리활성과의 관계를 분석하고자 하였다.

실험방법

시약 및 재료

합성 화합물들의 녹는점 측정은 Fisher-John melting point apparatus와 Buchi melting point apparatus를 사용하였으며

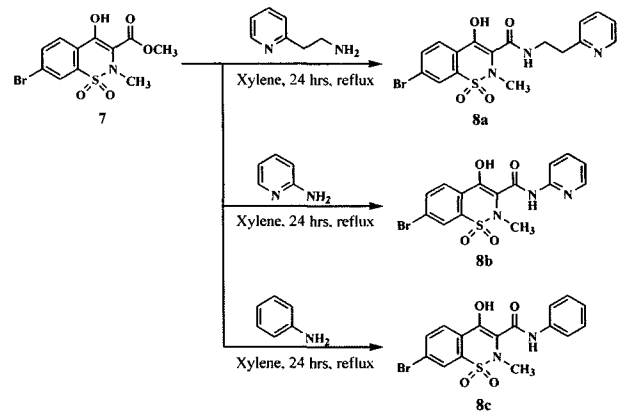
[#]본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 02-901-8498 (팩스) 02-901-8386
(E-mail) hsshin@center.duksung.ac.kr

NMR spectrum은 TMS를 표준물질로 하여 300MHz Gemini Varian NMR spectrometer로 측정하였다. 항염효과 실험에는 murine macrophage RAW 264.7 세포주를 사용하였으며 prostaglandin E₂(PGE₂), 효소 면역분석법(enzyme immunometric assay)을 위한 항체와 prostaglandin E₂ AChE Tracer 등은 Cayman Chemical(Ann Arbor, MI, USA)에서 구입하여 사용하였다. lipopolysaccharide(LPS, E. coli 0111 : B4), aspirin, arachidonic acid 등의 시약을 Sigma Chemical(St. Louis, MO, USA)에서 구입하여 사용하였다. Fetal bovine serum(FBS), penicilline-streptomycin 등은 GIBCO BRL(Gaithersburg, MD, USA)에서 구입하였으며 기타 합성에 필요한 시약은 1급 시약을 사용하였다.

화합물의 합성

7-Bromo-4-hydroxy-1,2-benzothiazine derivatives (7)의 합성 - Kwon 등의 합성 방법에 따라¹⁸⁾ chlorosulfonic acid(1) 132.9 ml (2.0 mol)를 넣고, ice bath를 사용하여 10°C를 유지하면서 *p*-bromotoluene(2) 171 g (1.0 mol)을 천천히 적가하고 상온에서 3시간 더 교반하였다. 반응액을 얼음물에 가하고 상온에서 하룻밤 반응시켜 2-chlorosulfonyl-4-bromotoluene(3)을 얻었고 이 화합물 82 g (0.3 mol)을 반응용기에 담고, 30°C 이하로 유지하면서 암모니아수 84.9 ml를 천천히 적가하였다. 온도를 80°C로 높이고 교반한 후 2-aminosulfonyl-4-bromotoluene(4)을 합성하였다. 이 화합물 27 g (0.1 mol)에 30%-NaOH 용액 14 ml를 가하여 교반하면서 녹였다. 온도를 38-40°C로 유지하면서 potassium permanganate 48.4 g (0.31 mol)를 소량씩 천천히 가하였다. 상온에서 하룻밤 교반한 후, 여과한 여액에 포화 NaHSO₃를 가하여 액성을 중성으로 맞추었다. 이 sodium 6-bromobenzosulfimide (5) 4 g (0.014 mol)을 DMF 4 ml에 methyl chloroacetate 1.2 ml (0.014 mol)과 교반하면서 가한 후 3시간동안 환류하였다. sodium methoxide 용액에 6-bromo-3-oxo-1,2-benzothiazoline-3-acetic acid methyl ester-1,1-dioxide(6) 0.63 g (0.002 mol)을 일시에 가하였다. 그 후 1시간동안 환류하고 반응액을 식힌다음, ice bath 상에서 c-HCl을 충분히 가하여 7-bromo-4-hydroxy-2H-1,2-benzothiazine 유도체 화합물을 얻었다. 이를 정제수 2.1 ml에 가하고 상온에서 24시간 반응하였다. 생성된 미백색의 결정을 냉 methanol로 세척하면서 감압여과하여 목적화합물(7)을 얻었다.

7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-N-(2-pyridinyl)-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide (8)의 합성 - 7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-1,2-benzothiazine-3-carboxylic acid methyl ester-1,1-dioxide(7) 0.5 g (0.0014 mol)과 2-aminopyridine 또는 2-aniline이나 2-(2-aminoethyl)pyridine 0.29 ml (0.0024 mol)을 two neck round bottom flask에 넣고 99+% anhydrous *p*-xylene 20 ml를 가하여 질소가스를 통과시키며 24시간 환류하



Scheme 1 - Synthesis of 7-bromo-4-hydroxy-2-methyl-N-pyridinyl-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxides (8a-8c).

였다. 반응액을 식힌 후, 감압농축하여 생긴 solid를 methanol로 재결정하였다. Yield 0.15 g (24.6%), mp 198-200°C, Formula C₁₇H₁₆BrN₃O₄S (M.W. 438.29), NMR (DMSO-d₆), δ2.75 (s, 3H, CH₃), 3.01 (t, 2H, CH₂), 3.35 (s, 1H, NH), 3.61 (q, 2H, CH₂), 7.20-8.90 (m, 7H, BrC₁₁H₇), (Scheme 1).

7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-N-picolinyl-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide derivatives (9-12)의 합성

1) 7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-N-{2-(3-picolinyl)}-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide(9)의 합성

7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-1,2-benzothiazine-3-carboxylic acid methyl ester-1,1-dioxide (7) 0.35 g (0.001 mol)과 2-amino-3-picoline 0.21 ml (0.002 mol)을 two neck round bottom flask에 넣고 99+% anhydrous *p*-xylene 20 ml를 가하여 질소가스를 통과시키며 24시간 환류하였다. 반응액을 식힌 후, 감압농축하여 생긴 solid를 methanol로 재결정하였다. Yield 0.16 g (38.1%), mp 259-261°C, Formula C₁₆H₁₄BrN₃O₄S (M.W. 424.26), NMR (DMSO-d₆), δ2.37 (s, 3H, CH₃), 2.84 (s, 3H, CH₃), 3.36 (s, 1H, NH), 7.15-8.31 (m, 6H, BrC₁₁H₆), IR (KBr, cm⁻¹) 3329 (NH), 1620 (CO), 1453 (aromatic), 1333 (SO₂)

2) 7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-N-{2-(4-picolinyl)}-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide(10)의 합성

7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-1,2-benzothiazine-3-carboxylic acid methyl ester-1,1-dioxide (7) 0.35 g (0.001 mol)과 2-amino-4-picoline 0.22 g (0.002 mol)을 two neck round bottom flask에 넣고 99+% anhydrous *p*-xylene 20 ml를 가하여 질소가스를 통과시키며 24시간 환류하였다. 반응액을 식힌 후, 감압농축하여 생긴 solid를 methanol로 재결정하였다. Yield 0.11 g (26.2%), m.p. 248-250°C, Formula C₁₆H₁₄BrN₃O₄S (M.W. 424.26), NMR (DMSO-d₆), δ2.38 (s, 3H, CH₃), 3.30 (s, 3H, CH₃),

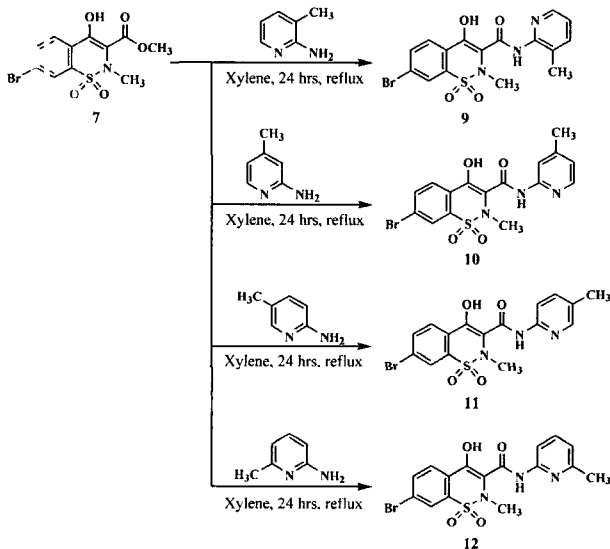
3.37 (s, 1H, NH), 7.05-8.44 (m, 6H, BrC₁₁H₆), 10.34 (s, 1H, OH), IR (KBr, cm⁻¹) 3335 (NH), 1620 (CO), 1438 (aromatic), 1333 (SO₂)

3. 7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-N-(2-(5-picolinyl))-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide(11)의 합성

7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-1,2-benzothiazine-3-carboxylic acid methyl ester-1,1-dioxide (7) 0.35 g (0.001 mol)과 2-amino-5-picoline 0.22 g (0.002 mol)을 two neck round bottom flask 에 넣고 99+% anhydrous *p*-xylene 20 ml를 가하여 질소가스를 통과시키며 24시간 환류하였다. 반응액을 식힌 후, 감압농축하여 생긴 solid를 methanol로 재결정하였다. Yield 0.27 g (64.3%), mp 118-221, Formula C₁₆H₁₄BrN₃O₄S (M.W. 424.26), NMR (DMSO-d₆), δ2.32 (s, 3H, CH₃), 3.37 (s, 1H, NH), 3.44 (s, 3H, CH₃), 7.63-8.50 (m, 6H, BrC₁₁H₆), 10.34 (s, 1H, OH), IR (KBr, cm⁻¹), 3310.9 (NH), 1650.8 (CO), 1518 (aromatic), 1333.9 (SO₂), (Scheme 2)

4) 7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-N-(2-(6-picolinyl))-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxide(12)의 합성

7-Bromo-4-hydroxy-2-methyl-1,2-benzothiazine-3-carboxylic acid methyl ester-1,1-dioxide (7) 0.35 g (0.001 mol)과 2-amino-6-picoline 0.22 g (0.002 mol)을 two neck round bottom flask 에 넣고 99+% anhydrous *p*-xylene 20 ml를 가하여 질소가스를 통과시키며 24시간 환류하였다. 반응액을 식힌 후, 감압농축하여 생긴 solid를 methanol로 재결정하였다. Yield 0.03 g (7.1%), mp 206-208°C, Formula C₁₆H₁₄BrN₃O₄S (M.W. 424.26), NMR (DMSO-d₆), δ2.45 (s, 3H, CH₃), 3.36 (s, 1H, NH), 3.43 (s, 3H, CH₃), 7.11-8.52 (m, 6H, BrC₁₁H₆), 10.24 (d, 1H, OH),



Scheme 2 – Synthesis of 7-bromo-4-hydroxy-2-methyl-N-picolinyl-1,2-benzothiazine-3-carboxamide-1,1-dioxides (9-12).

IR (KBr, cm⁻¹) 3368 (NH), 1658 (CO), 1451 (aromatic), 1319 (SO₂)

세포의 분리 및 배양

Murine macrophage RAW 264.7 세포주는 5% CO₂, 37°C 배양기에서 Dulbecco's modified Eagle's Medium(DMEM, 1% penicillin-streptomycin(10,000 unit/ml), 10% FBS) 배지로 2-3 일 간격으로 계대배양하였으며 plate 바닥에 부착된 세포를 분리 할 때는 trypsin-EDTA 현탁되어 있는 현탁액을 원심분리하고 3 회 세척한 후 fetal bovine serum(FBS)이 함유되어 있지 않은 Dulbecco's modified Eagle's Medium(DMEM)으로 10⁶ cell/ml 가 되도록 현탁시켰다. 이 현탁액에 아스피린을 500 μM이 되도록 첨가하여 세포에 잔존하는 COX 효소의 활성을 비가역적으로 저해하였다. 이 현탁액을 96 well 세포배양판의 각 well에 100 μl를 가하여 5% CO₂, 37°C에서 2시간동안 배양하여 대식세포를 용기 표면에 부착시켰다. 부착된 대식세포를 PBS로 3회 세척한 후, 각 well 표면에 남아있는 대식세포를 실험에 사용하였다.

Lipopolysaccharide(LPS)로 유도된 COX-2 저해효과 실험

Hemacytometer로 최종 세포수가 10⁶ cell/ml로 조정된 96 well 세포배양판의 각 well에 10 μg/ml의 LPS를 처리하고 3%의 FBS가 함유된 DMEM 배지 200 μl를 넣은 직후, 검색시료인 합성 항염증 약물들을 2 μl씩 처리하였다. 5% CO₂, 37°C에서 16 시간동안 배양하고 반응 종료 후 일정량의 상층액을 회수하여 효소면역 분석법에 따라¹⁶⁾ ELISA plate reader를 이용하여 흡광도 (504 nm)를 측정하는 방법으로 유리된 prostaglandin E₂(PGE₂)량을 이용하여 정량하였다. 각 NSAID들의 IC₅₀는 LPS를 처리하지 않은 대조군에서 생성된 PGE₂에 대한, LPS를 처리한 실험군에서 생성된 PGE₂량의 차이로부터 % 저해능(% inhibition)을 구한 후 계산하였다. 실험군과 대조군은 duplicate로 3회 이상 동일 실험을 실시하였다.

Arachidonic acid(AA)를 처리한 COX-2 저해활성 실험

최종세포수가 10⁶ cell/ml로 조정된 96 well 세포배양판의 각 well에 10 μg/ml의 LPS를 처리하고 3%의 FBS가 함유된 DMEM 배지 200 μl를 넣고 5% CO₂, 37°C에서 배양하여 COX-2 활성을 유도시켰다. 16시간동안 배양한 후, PBS로 대식세포를 세척하고 각 well에 FBS가 함유되지 않은 DMEM 배지 200 μl를 넣고 검색시료를 2 μl씩 처리하여 5-15분간 37°C에서 방치하였다. 최종농도가 10 μM이 되도록 arachidonic acid를 처리하고 15-20분간 재배양하였으며 COX-1 분석의 경우 어떤 처리도 하지 않은 대식세포를 사용하였다. 반응 종료 후 일정량의 상층액을 회수하여 효소 면역분석법에 따라 ELISA plate reader를 이용하여 흡광도(504 nm)를 측정하는 방법으로 유리된 PGE₂량을

정량하였다. 각 NSAID들의 IC₅₀는 AA를 처리하지 않은 대조군에서 생성된 PGE₂에 대한, AA를 처리한 실험군에서 생성된 PGE₂량의 차이로부터 % 저해능(% inhibition)을 구한 후 계산하였다. 실험군과 대조군은 duplicate로 3회 이상 동일 실험을 실시하였다.

실험 결과 및 고찰

비 steroid성 소염진통제들은 위장장애 등의 부작용 때문에 만성질환 환자들의 장기복용 측면에서 많은 문제점을 나타내었다. 이러한 문제점을 해결하기 위하여 salicylate 유도체로부터 시작된 NSAID약물연구에서는 그 후에 pyrazolone 유도체나 oxicam 유도체 등으로 개발이 시도되었는데 lipophilic 특성의 NSAID 분자구조가 생체막에 직접 작용하여 비특이적으로 생체막의 유동성에 변화를 주어 막구조를 변화시킨다고 보고되었다.¹⁷⁾ 이들 NSAID약물 중 oxicam 계열의 화합물들의 약리작용 기전은 arachidonic acid에 대한 COX의 작용을 선택적으로 저해하여 PG의 합성을 억제하며 adenosine diphosphate로 인한 혈소판 응집과 collagen 율혈의 제2기를 억제하여 강력한 소염진통 작용을 나타내는 것 등이 보고되었다.^{18,19)} 이를 위해 생체 내에서의 생물학적 반감기가 길고 항염증 효과가 탁월한 oxicam 계열 화합물에 착안하여 선택적 구조특이성을 시도하고 합성된 유도체들의 구조적 특성과 COX효소 저해작용과의 연관성에 관한 연구를 진행하였다

합성실험은 *p*-bromotoluene을 출발물질로 하여 chlorosulfonation을 비롯하여 amination, oxidation 및 cyclization을 거쳐서 6-bromobenzosulfimide를 합성하였고 Gabriel-Colmann rearrangement로 고리를 확장시켜 benzothiazine 유도체를 합성하였다. 한편, pyridine핵에는 다른 치환기가 붙은 pyridine이나 picoline 계열의 다른 hetero 고리로 치환함으로써 최종 목적화합물을 합성하였다. 이러한 구조화합물의 착안점은 COX-1과 COX-2의 활성부위 아미노산 잔기와와의 상호작용은 강한 이온결합이므로 선택성에 필요한 상호작용을 조절할 수 있게 되는 것이다. 이는 약물을 docking시킬 때 COX-1과 COX-2의 활성부위에서 수소결합을 할 수 있는 위치가 COX-2에 더 많다고 발표한 Rhee 등의 보고와²⁰⁾ 관련지어 본다면 수소결합이 가능한 amide기 등을 선택성 있는 구조활성관계로 볼 수 있다.

항염증 효과를 검색하는 실험으로는 COX 효소가 발현되는 murine macrophage RAW 264.7 세포주에 bacterial lipopolysaccharide(LPS)를 처리하여 COX-2 효소를 유도한 후, prostaglandin 합성능 변화를 비교하는 유도모델(induction model)을²¹⁾ 이용하여 효소 저해능(% inhibition)을 산출하였다.

먼저, benzothiazine 모핵에 Br을 도입하고 2-aminopyridine 기를 amide group으로 연결한 benzothiazine-3-carboxamide 계

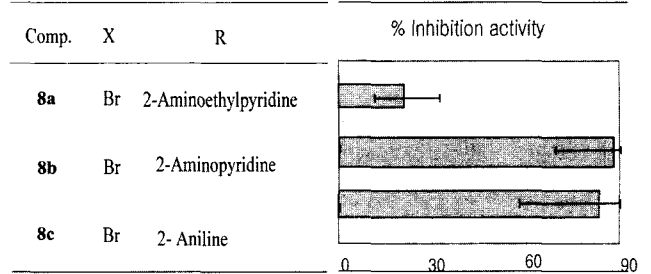
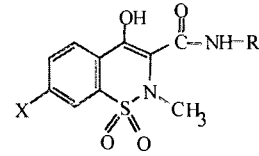


Fig. 1 -% Inhibitory activity of *N*-pyridinyl-1,2-benzothiazine-3-carboxamide derivative (**8a-8c**) on COX-2 in LPS-stimulated RAW 264.7 cell at 10 μg/ml.

열의 화합물(**8a-8c**)의 효소저해 효과는 Fig. 1에 나타난 바와 같이 화합물 **8a**는 24.4±37.1(평균값±표준편차), 화합물 **8b**는 88.6±39.4로 그리고 화합물 **8c**는 83.3±25.7로 **8b**와 **8c**는 매우 탁월한 COX-2 저해효과를 나타냈다. Aminopicoline 기가 도입된 benzothiazine-3-carboxamide 계열의 유도체들(**9-12**)의 효소저해 효과는 Fig. 2에 나타난 바와 같이 화합물 **9**는 4.0±23.4, 화합물 **10**는 32.8±4.1, 화합물 **11**는 68.6±26.7로 그리고 화합물 **12**는 60.3±22.4로 이 계열의 화합물들은 대체적으로 50% 전후로 한 COX-2 저해효과를 나타냈다.

이와 같은 효소유도 방법으로 측정된 prostaglandin의 생성량 중에는 LPS에 의하여 유도된 COX-2 저해효과 이외에도 다른 경로에 의하여 생성된 prostaglandin 량도 포함될 수 있다고 밝혀진 바 있다.¹⁷⁾ 따라서 COX-2 효소에 대해 직접적인 저해활성을 갖는가를 판단하기 위하여 다음 단계의 실험을 진행하였다. 대식세포(macrophage cell)에 COX-2 효소를 유도시킨 후 arachidonic acid(AA)를 전처리함으로써 유리된 PGE₂ 생성성 증가량을 enzyme immunosorbent assay(ELISA) 방법으로 정량하는 활성모델(activity model)²²⁾을 설정하였다. 이 실험방법을 통해 효소 저해능(% inhibition)을 산출한 결과는 먼저, 2-aminopyridine 기를 amide group으로 연결한 benzothiazine-3-carboxamide 계열의 화합물들(**8a-8c**)의 효소활성 저해효과는 Fig. 3에서 나타난 바와 같이 화합물 **8a**는 14%, 화합물 **8b**는 78% 그리고 화합물 **8c**는 91%로 예상했던 결과대로 효소활성 평가면에서도 **8b**와 **8c**는 탁월한 선택적 COX-2 저해효과를 나타냈다. 2-Aminopicoline 기가 도입된 benzothiazine-3-carboxamide 유도체들(**9-12**)의 효소활성 저해효과는 화합물 **9**는 13%, 화합물 **10**는 19%, 화합물 **11**는 48% 그리고 화합물 **12**는 36%로써 COX-2 활성저해 선택성이 잠재하는 결과가 확인되었다. 대부분의 화합물들의 결과에서 효소유도 실험방법과 유사한 결과로 COX-2 활

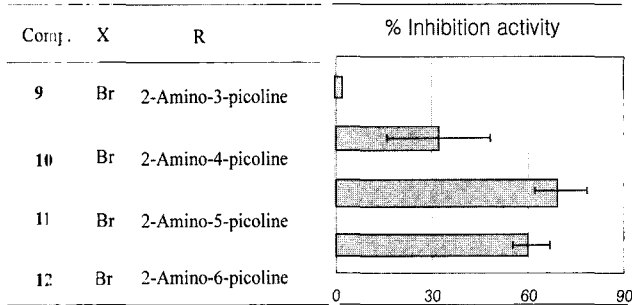
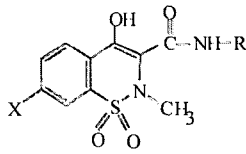


Fig. 2 - % Inhibitory activity of *N*-picolinyl-1,2-benzothiazine-3-carboxamide derivative (9-12) on COX-2 in LPS-stimulated RAW 264.7 cell at 10 μ g/ml.

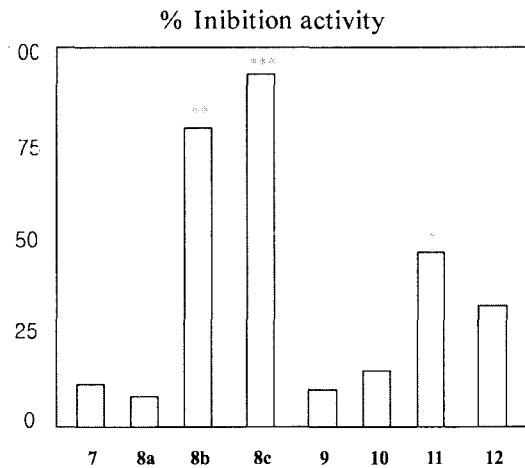


Fig. 3 - % Inhibitory activity of benzothiazine-3-carboxamide derivatives on COX-2 in LPS-stimulated murine macrophage cell with 10 μ M arachidonic acid.

성저희 효과를 보여 실험의 신뢰도가 높은 것으로 나타났다. 또 다른 구조특이성의 차이로 화합물 11, 12의 경우에는 COX-2 활성 기체보다는 COX-1에 대한 저해작용이 더욱 강한 결과를 보였다. 이들 화합물은 LPS로 유도된 실험에서 효소저해 효과가 강한 결과를 나타냈으나 COX-2활성 실험에서는 약한(화합물12, 36%) 결과를 나타냈고, COX-1 저해활성을 나타내어(화합물12, 79%) COX-2보다 오히려 더 강한 COX-1 선택성에 기인하는 것으로 확인되었다(자료생략). 새로운 COX-2 저해체 개발을 위한 선택적 구조특이성을 시도한 목적화합물들은 반응 생성물 자체의 화합물 구조상 amide를 bridge로 하여 aminopicoline기가 치환되었을 경우보다 aniline이나 이와 유사한 aminopyridine기가 치환된 구조의 화합물인 경우에 효소저해 실험에서 더 좋은 결과를 보였으며 대체적으로 대조화합물로 선정된 celecoxib나

indometacin 등에 비해 10-100배정도 작은 활성을 나타내었다.

정상조직 위점막세포의 COX-1 효소에는 작용하지 않고 염증 부위의 COX-2 효소에만 특이적으로 작용해야 하는 선택적 측면에서 본다면 합성된 benzothiazine-3-carboxamide 계열의 유도체 중 가장 우수한 항염 활성을 보이는 화합물은 2-aminopyridine 기를 도입한 화합물 8b와 2-aniline 기를 도입한 화합물 8c가 LPS로 유도된 실험과 효소활성을 확인 평가하는 실험 모두에서 탁월한 COX-2 저해활성 결과를 나타내었고, 강력한 COX-2 선택성을 보유하는 선도약물이 될 수 있을 것으로 확인되었다.

감사의 말씀

본 연구는 2002학년도 덕성여자대학교 연구비 지원으로 이루어졌으며 이에 감사드립니다.

문헌

- 1) Michell, J. A., Akarasereenont, P., Thiemermann, C., Flower, R. J. and Vane, J. R. : Selectivity of nonsteroidal antiinflammatory drugs as inhibitors of constitutive and inducible cyclooxygenase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **90**, 11693 (1994).
- 2) Vane, J. K., Bakhle, Y. S. and Botting, R. M. : Cyclooxygenase 1 and 2. *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.* **38**, 97 (1998).
- 3) Dubois, R. N., Abramson, S. B., Crofford, L., Gupta, R. A., Simon, L. S., Van de putte L. B. A. and Lipsky, P. E. : Cyclooxygenase in biology and disease. *FASEB. J.* **12**, 1063 (1998).
- 4) Smith, W. L. : Prostanoid biosynthesis and mechanism of action. *Amer. Physiol. Soci.* **92**, F181 (1992).
- 5) Smith, W. L., Garavito, R. M. and DeWitt, D. L. : Prostaglandin endoperoxide H synthases (cyclooxygenase)-1 and -2. *J. Biol. Chem.* **271**, 33157 (1996).
- 6) Masferrer, J. L., Zweifel, B. S., Manning, P. T., Hauser, S. D., Leahy, K. M., Smith, W. G., Isakson, P. C. and Seibert, K. : Selective inhibition of inducible cyclooxygenase 2 *in vivo* is antiinflammatory and nonulcerogenic. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **91**, 3228 (1994).
- 7) Chang, H. and Jahang, Y. : Selective cyclooxygenase-2 inhibitors as anti-inflammatory agents. *Kor. J. Med. Chem.* **8**, 48 (1998).
- 8) Penning, T. D., Talley, J. J., Bertenshaw, S. R., Carter, J. S., Collins, P. W., Graneto, M. J., Lee, L. F., Malecha, J. W., Miyashiro, J. M., Rogers, R. S., Rogier, D. J., Yu, S. S., Anderson, G. D., Burton, E. G., Cogburn, J. N., Gregory, S. A., Koboldt, C. M., Perkins, W. E., Seibert, K., Veenhuizen, A. W., Zhang, Y. Y. and Isakson, P. C. : Synthesis and biological evaluation of the 1,5-diarylpyrazole class of cyclooxygenase-2 inhibitors: Identification of 4-[5-(4-methylphenyl)-3-(trifluoromethyl)-1H-

- pyrazol-1-yl]-benzenesulfonamide(SC-58635, Celecoxib). *J. Med. Chem.* **40**, 1347 (1997).
- 9) Lazer, E. S., Sorcek, R., Cywin, C. L., Thome, D., Possanza, G. J., Graham, A. G. and Churchill, L. : Antiinflammatory 2-benzyl-4-sulfonyl-4H-isoquinoline-1,3-diones: novel inhibitors of COX-2. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8**, 1181 (1998).
- 10) Masaki, M., Matsushita, M. and Wakitani, K. : Inhibitory effects of JTE-522, a novel prostaglandin H synthase-2 inhibitor, on adjuvant-induced arthritis and changes in rats. *Inflamm. res.* **47**, 187 (1998).
- 11) Lazer, E. S., Sorcek, R., Cywin, C. L., Thome, D., Possanza, G. J., Graham, A. G. and Churchill, L. : Antiinflammatory 2-benzyl-4-sulfonyl-4H-isoquinoline-1,3-diones : novel inhibitors of COX-2. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **8**, 1181 (1998).
- 12) Chang, H. and Jahang, Y. : Selective cyclooxygenase-2 inhibitors as anti-inflammatory agents. *Kor. J. Med. Chem.* **8**, 48 (1998).
- 13) Masaki, M., Matsushita, M. and Wakitani, K. : Inhibitory effects of JTE-522, a novel prostaglandin H synthase-2 inhibitor, on adjuvant-induced arthritis and changes in rats. *Inflamm. Res.* **47**, 187 (1998).
- 14) Lee, S., Soyoola, E., Chanmugam, P., Hart, S., Sun, W., Zhong, H., Liou, S., Simmons, D. and Hwang, D. : Selective expression of mitogen-inducible cyclooxygenase in macrophages stimulated with lipopolysaccharide. *J. Biol. Chem.* **267**, 25934 (1992).
- 15) Noh, M., Ha, J., Lee, C., Lee, W., Lee, S. and Lee, J. : Inhibitory activities of natural products on lipopolysaccharide induced prostaglandin production in mouse macrophages. *Yakhak Hoeji* **42**, 558 (1998).
- 16) Dray, F., Mamasd, S. and Bizzini, B. : Problems of PGE antisera specificity *Meth. Enzymol.* **86**, 258 (1982).
- 17) Airt, M., and Engelhardt, G. : Relationship between COX-2 selectivity in vivo and improved safety profile in vivo for NSAIDs. *Pharmacol. Res.* **31**(Suppl.), 131 (1995).
- 18) Kwon, S. K. and Park, M. S. : Synthesis of 1,2-benzothiazine-3-carboxamidylhydantoin derivatives and their antiinflammatory and with analgesic activities. *Arch. Pharm. Res.* **15**, 251 (1992).
- 19) Kwon, S. K. and Park, M. S. : Some new 1,2-benzothiazine derivatives with analgesic and anti-inflammatory activities. *Arzneim.-Forsch./Drug Res.* **46**(II), 966 (1996).
- 20) Rhee, J., Doh, S. and Koo, B. : Docking mode of 4,5-diarylpyrroles into cyclooxygenase-1 and cyclooxygenase-2. *Yakhak Hoeji* **43**, 776 (1999).
- 21) Herschman, H. R. : Prostaglandin synthase 2. *Biochim. Biophys. Acta* **1299**, 125 (1996).
- 22) Reitz, D. B., Huang, H. C., Li, J. J., Garland, D. J. and Mannig, R. E. : Selective Cyclooxygenase Inhibitors ; Novel 1,2-Diarylcyclopentens are Potent and Orally Active COX-2 Inhibitors. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **5**, 867 (1995).