

## 8-아미노우고닌 유도체의 Prostaglandin E<sub>2</sub> 생성에 대한 저해작용

장진희 · 신관석 · 김현표 · 박해일\*

강원대학교 약학대학

(Received November 19, 2007; Revised January 24, 2008)

### Inhibitory Activity of 8-Aminowogonin Analogues Against Prostaglandin E<sub>2</sub> Production

Jinhee Jang, Kwan-Seog Sin, Hyun Pyo Kim and Haeil Park\*

College of Pharmacy, Kangwon National University, Chuncheon 200-701, Korea

**Abstract** — 8-Acyl and 8-sulfonylamidowogonin analogues were synthesized as potential anti-inflammatory agents. Nitration of 5,7-dihydroxyflavone (chrysin) followed by methylation of phenol groups and reduction of nitro group yielded 8-aminowogonin analogues. Acylation and sulfonation of 8-aminowogonin followed by demethylation reactions gave the title compounds. The synthesized wogonin analogues showed much reduced inhibitory activity on prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) production.

**Keywords** □ wogonin, 8-acylamido, 8-arylsulfonamido, prostaglandin E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) production

우고닌(5,7-디하이드록시-8-메톡시플라본)은 이미 고대 시대부터 동아시아 지역에서 항염증 용도로 쓰이고 있는 생약인 황금(*Scutellaria baicalensis* Georgi)의 뿌리로부터 얻은 유효성분 중의 하나인 flavonoid이다.<sup>1,2)</sup> Wogonin은 만성 관절염이 있는 동물 모델에 대한 항염증 효과가 보고된 적이 있으며<sup>2,3)</sup> 이 효과의 작용기전에 대한 연구 결과, COX-1 발현에는 영향을 주지 않으면서<sup>4,6)</sup> COX-2 효소의 발현과 활성화에 선택적으로 작용하여 염증 매개물질인 프로스타글란딘 E<sub>2</sub>(PGE<sub>2</sub>)의 생성을 억제하는 강력한 COX-2 억제제로서 LPS로 유도된 PGE<sub>2</sub> 생성을 강력하게 저해하는 작용을 한다.<sup>7)</sup> 최근에 wogonin은 항염증 작용<sup>8)</sup> 외에도 다양한 생물학적/약리학적 활성을 나타내는 것으로 밝혀졌는데, 항B형간염 바이러스 작용,<sup>9)</sup> 항산화 작용,<sup>10-17)</sup> 항알러지 작용,<sup>18-20)</sup> 항바이러스 작용<sup>21)</sup> 및 benzodiazepine계 안정제와는 달리 수면 작용이나 근육이완 작용 등의 부작용이 없이 항불안 효과를 나타낸다는 보고가 있다.<sup>22)</sup> 또한 신경보호 작용은 만성 염증반응과도 관련된 퇴행성 신경질환(neurodegenerative disease)의 치료에 유익하고 뇌졸중 개선작용에 관한 연구에서도 뇌 보호 작용이 있음이 밝혀졌다.<sup>23-26)</sup> 이와 같이 다양한 생리 활성을

보이는 wogonin은 아직까지 구조-활성 상관관계에 대한 연구가 체계적으로 시도된 적이 없으며, 최근에 밝혀진 항염증 작용기전에 대한 약물 개발도 현재 국내/외에서 시작 단계인 연구분야이다. 그러므로 wogonin을 선도화합물로 이용하여 구조적으로 유사한 유사체의 분자설계, 합성, 생리활성의 검정 및 구조-활성 상관관계의 연구를 통한 구조의 최적화 연구는 신 물질 발견의 가능성이 높으며, 또한 항염증 약물 개발의 기초 자료로서의 중요성도 상대적으로 높다고 할 수 있다.

우고닌의 구조 중 8-메톡시기는 항염증 활성화에 중요한 역할을 할 것으로 사료된다. 8-메톡시기의 중요성은 구조적으로 매우 유사한 크리신(chrysin)과 우고닌(wogonin)의 구조적 차이와 생리활성을 비교해 보면 알 수 있다(Fig. 1). 구조적으로 유사한 두 천연 유래 플라보노이드 화합물의 항염증 활성을 검증한 결과 우

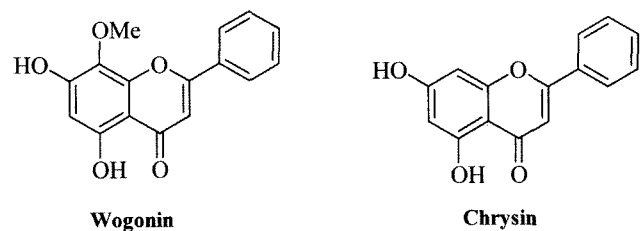


Fig. 1 - Chemical structures of plant-originated flavones, wogonin and chrysin.

\*본 논문에 관한 문의는 저자에게로

(전화) 033-250-6920 (팩스) 033-255-7865  
(E-mail) haeilp@kangwon.ac.kr

고닌의 생리활성이 훨씬 우수하였다. 이 두 화합물간의 유일한 구조적 차이는 오직 8번 위치의 메톡시기의 존재 여부에 있으므로 8-메톡시기는 항염증 활성화에 중요한 역할을 하는 것으로 인식되었다. 이와 같은 구조-활성의 연관성을 바탕으로 8번 위치의 관능기들이 항염증 활성화에 미치는 영향을 고찰하기 위하여 8-메톡시기를 다양한 관능기로 변환시킨 화합물을 합성하고 8번 위치의 관능기들이 항염증 작용에 미치는 영향에 관한 연구의 일환으로서 8-아미노, 8-아실아미도 및 8-설폰닐아미도우고닌 화합물을 제조하고 염증유발 인자인 prostaglandin E<sub>2</sub>에 대한 억제력을 측정하여 항염증제로서의 개발 가능성을 탐색 하였다.

## 실험 방법

### 시약 및 기기

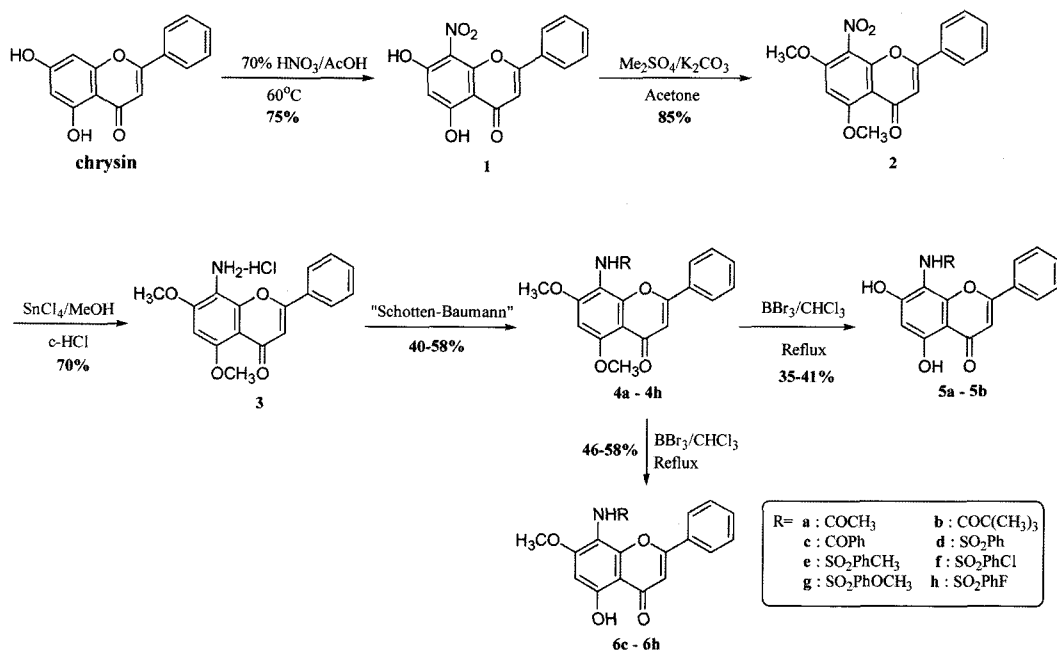
본 실험에 사용한 시약은 Aldrich, Sigma, Fluka, Tokyo Kasei 및 Lancaster에서 구매한 특급시약을 사용하였고, 추출 및 컬럼용 용매는 국내 시약사로부터 구매한 특급용매를 별도의 정제과정을 거치지 않고 그대로 사용하였으며, 무수용매는 HPLC 등급의 해당 용매를 구입 후 별도의 건조 및 증류과정을 거쳐 얻어진 순수한 물질을 반응에 이용하였다. <sup>1</sup>H-NMR 및 <sup>13</sup>C-NMR은 Varian Gemini 2000 instrument(<sup>1</sup>H; 200 MHz, <sup>13</sup>C; 50 MHz)를 사용하여 측정하였으며 내부표준 물질로 tetramethylsilane (TMS)을 사용하였다. 분석용 박층 크로마토그래피(TLC)는 Merck 제품인 실리카 젤 60F<sub>254</sub>를 사용하였고, 일반 컬럼 크로마토그래피는 Merck 제품인 Kieselgel 60(70-200 Mesh)를, 플래시 컬럼

크로마토그래피는 Merck 제품인 Kieselgel 60(230~400 Mesh)를 사용하였다. 용점측정은 Fischer 제품의 microscopic melting point apparatus를 사용하여 측정하였으며 이에 대한 보정은 하지 않았다. 생리활성의 비교를 위하여 대조물질로서 사용하는 NS-398[N-(2-cyclohexyloxy)-4-nitrophenylmethanesulfonamide]은 Biomol(Philadelphia, USA)에서, LPS는 Sigma Chemical Co.에서 구매하였고, DMEM(Dulbecco's modified Eagle's medium)과 FBS(fetal bovine serum)를 포함한 기타 cell culture 시약들은 Gibco(California, USA)에서 구매하여 사용하였다.

RAW 264.7 cells(American Type Culture Collection, TIB-71)은 37°C에서 5% CO<sub>2</sub> 존재 하에서 10% FBS와 1% antibiotics를 가한 DMEM에서 배양하여 LPS로 activation 하였다. 즉, cell은 96-well plates(2×10<sup>5</sup> cells/well)에 배양하고, 각각의 합성된 flavones은 DMSO에 용해하여 LPS(1 µg/ml)를 가한 후 24시간 동안 배양하였다. Cell viability는 MTT assay로 확인하였는데, 모든 test 화합물은 세포독성을 나타내지 않았다. 배지에서 PGE<sub>2</sub> 농도는 enzyme immunoassay(EIA) kit(Cayman Chemical Co.)를 사용하여 제조사의 지시에 따라 측정하였다. LPS로 처리한 RAW 264.7 cells로부터 생성된 PGE<sub>2</sub>에 대하여 합성된 flavone 유도체들의 억제 활성을 평가하였으며, 모든 실험은 최소한 두 번 실행하여 동일한 결과를 얻었다.

### 5,7-Dihydroxy-8-nitroflavone(1)의 합성

Chrysin 5 g(20.00 mmole)을 glacial acetic acid에 넣고, 반응 혼합물을 60°C로 가열한 후 70% nitric acid 15 ml(21.00



Scheme 1 – Synthesis of 8-acylamido and 8-sulfonylamidowogonin analogues.

mmole)를 30분에 걸쳐서 천천히 적하 하였다. 이 온도에서 2시간 동안 교반하고, TLC로 반응 완료 확인 후 실온으로 냉각하였다. 이때 생성된 침전물은 여과 후 증류수로 세척하고, 아세톤 또는 methanol로 재결정하여 화합물 **1**를 얻었다(수득률: 75%).

<sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 6.49(1H, s, C3-H), 6.92(1H, s, C6-H), 7.58~7.63(3H, m, C3',4',5'-H), 8.08~8.12(2H, m, C2',6'-H), 12.02(1H, s, C7-OH), 14.10(1H, s, C5-OH).

### 5,7-Dimethoxy-8-nitroflavone(2)의 합성

화합물 **1**(4.4 g, 15.00 mmole)에 무수 아세톤, 무수 탄산칼륨 6.23 g(45.00 mmole)을 넣고 교반하면서 dimethyl sulfate 3.98 g(18.00 mmole)를 가하여 페놀을 메틸화 시킨 화합물 **2**를 얻었다(수득률: 85%).

<sup>1</sup>H NMR(200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 4.10, 4.18(6H, s, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.91(1H, s, C3-H), 7.01(1H, s, C6-H), 7.65~7.68(3H, m, C3',4',5'-H), 7.94~7.98(2H, m, C2',6'-H).

### 8-Amino-5,7-dimethoxyflavone hydrochloride(3)의 합성

화합물 **2**(3.2 g, 10 mmole)에 methanol을 넣고 tin tetrachloride pentahydrate 24.5 g(70.00 mmole)를 가한 후, 냉각기를 장치하고 하루 밤 동안 가열환류를 하였다. TLC로 반응 완결을 확인 후 methanol을 농축, 제거하여 전체 반응 혼합물의 반정도 양만이 남도록 하였다. 여기에 진한염산으로 중화하고(pH 7~8) dichloromethane으로 추출하여 분리한 유기층의 수분을 magnesium sulfate로 제거한 후, 이를 여과하고 여액은 20°C에서 농축하였다. 생성된 고체는 불안정한 free amine 형태이므로 methanol에 다시 용해한 후 동일한 당량으로 진한염산을 가하여 염을 만들고, 45~55°C로 가열한 후 methanol을 제거하여 2.0 g 고체의 화합물 **3**를 얻었다(수득률: 70%).

<sup>1</sup>H NMR(200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.96, 4.10(6H, s, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.82(1H, s, C3-H), 6.87(1H, s, C6-H), 7.57~7.59(3H, m, C3',4',5'-H), 8.21~8.25(2H, m, C2',6'-H).

### 8-Acylamido-5,7-dimethoxyflavone 유도체(4a~4h)의 합성

화합물 **3**(0.5 g, 1.50 mmole)에 무수 triethylamine 0.8 ml(5.70 mmole)와 무수 dichloromethane 적량을 넣고 ice-bath상에서 교반하며 용해하였다. 여기에 acetyl chloride 0.27 ml(3.80 mmole) 또는 trimethylacetyl chloride 0.38 ml(3.06 mmole)를 천천히 적하 하고 수 분간 교반 후, ice-bath를 제거하고 실온에서 하루 밤 동안 반응 후 분리정제 후 농축한 생성물을 methanol로 재결정하여 화합물 **4a**와 **4b**를 얻었다.

화합물 **3**(0.8 g)에 1N-potassium hydroxide 용액을 가하고 dichloromethane으로 추출하여 free amine 형태의 목적물 0.48 g을 얻었다. 이 free amine 0.48 g(1.60 mmole)에 무수 triethyl-

amine 0.44 ml(3.20 mmole)와 무수 dichloromethane 적량을 넣고 ice-bath상에서 교반하며 용해하였다. 여기에 benzoyl chloride 0.37 ml(3.20 mmole)를 천천히 적하 하고 수 분간 교반 후, 분리 정제하여 화합물 **4c**를 얻었다.

화합물 **3**(0.55 g, 1.65 mmole)에 무수 pyridine 0.47 ml(5.78 mmole), 무수 dichloromethane 적량을 넣고 ice-bath상에서 교반하며 용해하였다. 여기에 aryl sulfonyl chloride 1.3 당량(2.15 mmole)를 천천히 적하 하고 수 분간 교반, 후처리 후 분리 정제하여 화합물 **4d~4h**를 얻었다

**8-Acetamido-5,7-dimethylflavone(4a)** - <sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.32(3H, s, -COCH<sub>3</sub>), 3.98, 4.01(6H, s, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.44(1H, s, C3-H), 6.65(1H, s, C6-H), 7.45~7.50(3H, m, C3',4',5'-H), 7.79~7.83(2H, m, C2',6'-H). 수득률: 42%.

**5,7-Dimethoxy-8-trimethylacetamidoflavone(4b)** - <sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 1.42(9H, s, -(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 3.97, 4.02(6H, s, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.45(1H, s, C3-H), 6.72(1H, s, C6-H), 6.94(1H, s, -NH-), 7.45~7.48(3H, m, C3',4',5'-H), 7.81~7.86(2H, m, C2',6'-H). 수득률: 40%.

**8-Benzamido-5,7-dimethylflavone(4c)** - <sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub> & DMSO-d<sub>6</sub>) δ 4.02(6H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.65(2H, d, C3,6-H), 7.31-7.45(3H, m, C3',4',5'-H), 7.49~7.61(3H, m, C3'',4'',5''-H), 7.81(2H, d, *J*=7.6 Hz, C2',6'-H), 7.99(2H, d, *J*=7.6 Hz, C2'',6''-H), 9.66(1H, s, -NH-). 수득률: 46%.

**8-Benzenesulfonamido-5,7-dimethylflavone(4d)** - <sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.50, 3.98(6H, s, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.09(1H, s, -NH-), 6.23(1H, s, C3-H), 6.66(1H, s, C6-H), 7.38~7.50(6H, m, C3',4',5',C3'',4'',5''-H), 7.74~7.78(2H, m, C2',6'-H), 7.91~7.95(2H, m, C2'',6''-H). 수득률: 40%.

**5,7-Dimethoxy-8-(4''-methylbenzenesulfonamido)flavone(4e)** - <sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 2.32(3H, s, -CH<sub>3</sub>), 3.58, 3.99(6H, s, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.05(1H, s, -NH-), 6.27(1H, s, C3-H), 6.64(1H, s, C6-H), 7.13(2H, d, *J*=8.2 Hz, C3'',5''-H), 7.47~7.50(3H, m, C3',4',5'-H), 7.62(2H, d, *J*=8.2 Hz, C2'',6''-H), 7.85~7.89(2H, m, C2',6'-H). 수득률: 43%.

**8-(4''-Chlorobenzenesulfonamido)-5,7-dimethoxyflavone(4f)** - <sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.60, 4.00(6H, s, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.09(1H, s, -NH-), 6.27(1H, s, C3-H), 6.66(1H, s, C6-H), 7.32(2H, d, *J*=8.6 Hz, C3'',5''-H), 7.45~7.52(3H, m, C3',4',5'-H), 7.68(2H, d, *J*=8.6 Hz, C2'',6''-H), 7.86~7.91(2H, m, C2',6'-H). 수득률: 58%.

**8-(4''-Methoxybenzenesulfonamido)-5,7-dimethoxyflavone(4g)** - <sup>1</sup>H NMR(200 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 3.61, 3.77, 3.98(9H, s, s, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.14(1H, s, -NH-), 6.26(1H, s, C3-H), 6.64(1H, s, C6-H), 6.79(2H, d, *J*=8.8 Hz, C3'',5''-H), 7.47~

7.50(3H, m, C3',4',5'-H), 7.66(2H, d,  $J=8.8$  Hz, C2'',6''-H), 7.87~7.90(2H, m, C2',6'-H). 수득률: 52%.

**8-(4''-Fluorobenzenesulfonamido)-5,7-dimethoxyflavone (4h)** -  $^1\text{H}$  NMR(200 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.59, 3.98(6H, s, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 6.19(1H, s,  $-\text{NH}-$ ), 6.25(1H, s, C3-H), 6.65(1H, s, C6-H), 7.03(2H, m, C3'',5''-H), 7.49~7.51(3H, m, C3',4',5'-H), 7.77(2H, m, C2'',6''-H), 7.88~7.93(2H, m, C2',6'-H). 수득률: 61%.

#### 8-Acylamido-5,7-dihydroxyflavone 유도체(5a~5b)의 합성

화합물 4a~4b 1 당량의 anhydrous chloroform을 넣은 후, boron tribromide(solution of 1M/dichloromethane) 6 당량을 천천히 가하고 냉각기 장치 하에서 하루 밤 동안 가열환류 하였다. 반응 후처리 과정은 우선 포화 중탄산나트륨 수용액을 이용하여 반응시간을 분해 후 유기용매로 추출 후 박층 크로마토그래피를 수행하여 화합물 5a~5b를 얻었다.

**8-Acetamido-5,7-dihydroxyflavone(5a)** -  $^1\text{H}$  NMR(200 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  2.13(3H, s,  $-\text{COCH}_3$ ), 6.34(1H, s, C3-H), 7.01(1H, s, C6-H), 7.59~7.62(3H, m, C3',4',5'-H), 7.98~8.02 (2H, m, C2'',6''-H), 9.28(1H, s,  $-\text{NH}-$ ), 10.98(1H, br, C7-OH), 12.77(1H, s, C5-OH). 수득률: 35%.

**5,7-Dihydroxy-8-trimethylacetamidoflavone(5b)** -  $^1\text{H}$  NMR(200 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  1.29(9H, s,  $-(\text{CH}_3)_3$ ), 6.36(1H, s, C3-H), 7.00(1H, s, C6-H), 7.55~7.59(3H, m, C3',4',5'-H), 8.00(2H, d,  $J=6.8$  Hz, C2'',6''-H), 8.80(1H, s,  $-\text{NH}-$ ), 12.79(1H, s, C5-OH). 수득률: 41%.

#### 8-Acylamido-5-hydroxy-7-methoxyflavone 유도체(6c~6h)의 합성

화합물 4c~4h 1 당량에 anhydrous chloroform을 넣은 후, boron tribromide(solution of 1M/dichloromethane) 6 당량을 천천히 가하고 냉각기 장치 하에서 하루 밤 동안 가열환류 하였다. 후처리 과정은 일반적인 과정과 동일한 방법으로 실험을 진행하여 화합물 6c~6h를 얻었다.

**8-Benzamido-5-hydroxy-7-methoxyflavone(6c)** -  $^1\text{H}$  NMR(200 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  3.94(3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 6.72(1H, s, C3-H), 7.08(1H, s, C6-H), 7.43~7.49(3H, m, C3',4',5'-H), 7.52~7.62(3H, m, C3'',4'',5''-H), 7.94(2H, d,  $J=7.6$  Hz, C2'',6''-H), 8.06(2H, d,  $J=7.4$  Hz, C2'',6''-H), 9.85(1H, s,  $-\text{NH}-$ ), 12.97(1H, s, C5-OH). 수득률: 52%.

**8-Benzenesulfonamido-5-hydroxy-7-methoxyflavone (6d)** -  $^1\text{H}$  NMR(200 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  6.51(1H, s, C3-H), 7.03(1H, s, C6-H), 7.44~7.61(6H, m, C3',4',5',C3'',4'',5''-H), 7.67~7.70(2H, m, C2'',6''-H), 8.07~8.10(2H, m, C2'',6''-H),

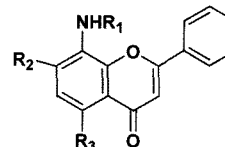
9.48(1H, s,  $-\text{NH}-$ ), 13.12(1H, s, C5-OH). 수득률: 61%.

**5-Hydroxy-7-methoxy-8-(4''-methylbenzenesulfonamido)flavone(6e)** -  $^1\text{H}$  NMR(200 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  2.23(3H, s,  $-\text{CH}_3$ ), 3.54(3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 6.52(1H, s, C3-H), 7.00(1H, s, C6-H), 7.17(2H, d, C3'',5''-H), 7.51~7.64(5H, m, C2-phenyl ring H), 8.02(2H, d, C2'',6''-H), 13.04(1H, s, C5-OH). 수득률: 48%.

**8-(4''-Chlorobenzenesulfonamido)-5-hydroxy-7-methoxyflavone(6f)** -  $^1\text{H}$  NMR(200 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  3.55(3H, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 6.52(1H, s, C3-H), 7.00(1H, s, C6-H), 7.44(2H, d,  $J=8.4$  Hz, C3'',5''-H), 7.52-7.61(3H, m, C3',4',5'-H), 7.66 (2H, d,  $J=8.4$  Hz, C2'',6''-H), 8.04(2H, d,  $J=7.2$  Hz, C2'',6''-H), 13.06(1H, br, C5-OH). 수득률: 53%.

**5-Hydroxy-7-methoxy-8-(4''-methoxybenzenesulfonamido)flavone(6g)** -  $^1\text{H}$ NMR(200 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  3.53, 3.71(6H, s, s,  $-\text{OCH}_3$ ), 6.51(1H, s, C3-H), 6.75(2H, d,  $J=8.6$  Hz, C3'',5''-H), 7.03(1H, s, C6-H), 7.49(2H, d,  $J=8.6$  Hz, C2'',6''-H), 7.56~7.64(3H, m, C3',4',5'-H), 8.09(2H, d,  $J=8.2$

Table I - 8-Alkyl(Aryl)amidoflavone 유도체들의 PGE<sub>2</sub> 생성에 대한 저해율<sup>1</sup>



Compound No.	Substituents			% Inhibition of PGE <sub>2</sub> Production <sup>2,3,4</sup>
	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	
3	H.HCl	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	5
4a	COCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	1
4b	COC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	0
4c	COPh	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	0
4d	SO <sub>2</sub> Ph	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	9
4e	SO <sub>2</sub> PhCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	0
4f	SO <sub>2</sub> PhCl	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	0
4g	SO <sub>2</sub> PhOCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	0
4h	SO <sub>2</sub> PhF	OCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	0
5a	COCH <sub>3</sub>	OH	OH	28
5b	COC(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub>	OH	OH	6
6c	COPh	OCH <sub>3</sub>	OH	4
6d	SO <sub>2</sub> Ph	OCH <sub>3</sub>	OH	31
6e	SO <sub>2</sub> PhCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	16
6f	SO <sub>2</sub> PhCl	OCH <sub>3</sub>	OH	18
6g	SO <sub>2</sub> PhOCH <sub>3</sub>	OCH <sub>3</sub>	OH	20
6h	SO <sub>2</sub> PhF	OCH <sub>3</sub>	OH	12

1. All compounds were treated at 10  $\mu\text{M}$ .

2. % inhibition =  $100 \times [1 - (\text{PGE}_2 \text{ of LPS with the flavones treated group} - \text{PGE}_2 \text{ of the basal}) / (\text{PGE}_2 \text{ of LPS treated group} - \text{PGE}_2 \text{ of the basal})]$ .

3. Arithmetic mean  $\pm$  SD (N=2).

4. NS-398, N-(2-cyclohexyloxy)-4-nitrophenylmethanesulfonamide, was used as the reference compound.

H<sub>z</sub>, C2',6'-H), 9.22(1H, brs, -NH-), 13.10(1H, brs, C5-OH). 수득률: 46%.

**8-(4'-Fluorobenzenesulfonamido)-5-hydroxy-7-methoxyflavone(6h)** - <sup>1</sup>H NMR(200 MHz, DMSO-d<sub>6</sub>) δ 3.55(3H, s, -OCH<sub>3</sub>), 6.53(1H, s, C3-H), 7.03(1H, s, C6-H), 7.24(2H, m, C3',5''-H), 7.60(2H, m, C2'',6''-H), 7.69-7.76(3H, m, C3',4',5'-H), 8.06(2H, d, J=6.4 Hz, C2',6'-H), 9.58(1H, br, -NH-), 13.10(1H, s, C5-OH). 수득률: 51%.

### 실험결과 및 고찰

A ring의 8-methoxy group을 8-acylamido 및 8-sulfonylamidowogonin 유도체의 합성을 위하여 크리신에 초산 용매 하에서 70% 질산을 가하여 니트로화 반응을 수행하여 8-니트로 화합물을 75% 수율로 제조하였다. 이 화합물에 무수 아세트, 무수 탄산칼륨, dimethyl sulfate를 가하고 가열환류하여 5와 7 위치의 수산기가 메틸화 된 화합물 **2**를 85%의 수율로 얻었다. 화합물 **2**를 환원하여<sup>27)</sup> 8-aminoflavone 유도체를 얻었다. 이 화합물 **2**에 methanol, tin tetrachloride pentahydrate를 가하고 가열환류하여 free amine 형태의 **3**의 free amine 화합물을 얻었지만, 이 free amine은 불안정하였으므로 진한염산으로 처리하여 안정한 형태인 염으로 만든 화합물 **3**을 70%의 수율로 얻었다. 화합물 **3**을 출발물질로 하여 wogonin의 8-메톡시기 위치에 acylamido 형태의 치환기를 도입한 8-acylamidoflavone 유도체를 합성하기 위하여 다양한 반응조건을 검토하였다. 먼저, alkali 용액 존재 하에서 acid chloride와의 Schotten-Baumann 반응을 이용하여 8-amino group을 8-acylamido group으로 변형시키는 반응을 진행하였는데, 화합물 **3**에 sodium hydrogen carbonate 용액이나 sodium hydroxide 용액을 넣고 acid chloride 또는 sulfonyl chloride와 반응하여<sup>28)</sup> 화합물 **4a~4h**를 얻었지만 수율이 극히 저조하고, 컬럼 크로마토그래피를 이용한 정제 과정을 진행하는데 있어서도 어려움이 있었다. 두 번째 반응은 triethylamine과 dichloromethane 존재 하에서 화합물 **3**에 acid chloride 또는 sulfonyl chloride와 반응한 후 재결정으로 정제하여 목적의 생성물을 얻었다. 이 방법에서 alkyl acid chloride와의 반응은 순조로워서 화합물 **4a**와 **4b**를 얻을 수 있었으나, aryl acid chloride와의 반응은 수율이 낮고 *N,N*-이중치환체와 혼합물이 얻어지므로, 화합물 **3**을 먼저 potassium hydroxide 용액과 반응하여 free amine 형태로 변환한 후, TEA를 사용하여 *N*-단일치환 화합물인 **4c**를 얻었다. 하지만 동일한 조건에서 sulfonyl chloride와의 반응에서 얻은 생성물은 8-amino group에 이중치환체가 도입된 화합물이었다. 이 *N,N*-이중치환체를 *N*-단일치환체로 변환하기 위하여 sodium ethoxide로 반응하였으나<sup>28)</sup> 수율이 극히 저조하여 다음 단계로의 반응 진행이 어려웠기 때문에 sulfonyl chloride

와의 반응에서는 당량을 조절하였으나(1.1 당량) *N,N*-이중치환체와 *N*-단일치환체의 혼합물을 5:1의 비율로 얻었다. 세 번째 실험방법은 triethylamine 대신에 diisopropylethylamine(DIEA)을 사용하고,<sup>29)</sup> *N,N*-이중치환체의 생성 비율을 낮추기 위하여 1.1 당량의 sulfonyl chloride를 사용하였지만 소량의 *N*-단일치환체만을 얻었다. 네 번째 실험방법은 DIEA 대신 pyridine을 사용하고<sup>30)</sup> 동일한 방법으로 실험을 진행하여 목적의 *N*-단일치환체인 **4d~4h**를 주 생성물로 얻을 수 있었다. 화합물 **4a~4h**의 5, 7 위치에 있는 메틸기를 탈보호 시키기 위하여 화합물 **4a~4h**에 chloroform과 boron tribromide를 넣고 가열환류하여 **5a~5b**를 35-41%의 수율로 얻었으나, 나머지 화합물들은 5 위치만 디메틸화 된 화합물인 **6c~6h**를 46~58%의 수율로 얻었다. 화합물 **5c~5h**를 얻기 위하여 **4c~4h**에 pyridinium hydrochloride를 가하고 가열환류하여 5 및 7 위치가 디메틸화 된 화합물을 얻을 수 있었으나 8 위치의 sulfonamido group 마저도 분해된 화합물이 생성되었다. 또 **4c~4h**에 sodium cyanide와 DMSO를 가하고 가열 환류 하였으나 디메틸화 된 목적의 화합물은 얻지 못하였다. 이들 화합물의 PGE<sub>2</sub> 생성억제력을 측정한 결과 뚜렷한 억제력을 나타내는 화합물은 찾을 수 없었다. 대부분의 화합물이 활성을 전혀 나타내지 않거나 미약한 활성을 나타내었다.

### 결 론

8-Arylamidoflavone 유도체의 합성 과정에서 8 위치에 benzenesulfonamido 또는 benzamido group을 가진 유도체들은 5 및 7 위치의 메틸기를 탈 보호시키는 과정에 어려움이 있었다. 8-Alkylamidoflavone 유도체들은 boron tribromide와 chloroform 존재 하에서 가열환류하여 쉽게 5,7 위치의 메틸기를 동시에 탈 보호 하였지만 8 위치에 arylamido group을 가진 유도체들은 5 위치의 메틸기만 탈 보호 할 수 있었기 때문에 다양한 반응조건을 검토하였는데, pyridinium hydrochloride를 넣고 가열환류하여 5 및 7 위치가 디메틸화 된 화합물을 얻었지만 동시에 8-arylamido group 마저도 cleavage된 물질이었다. 따라서 5 및 7 위치에 7-페놀기를 갖는 8-arylamidoflavone 유도체들도 PGE<sub>2</sub> 생성에 대한 억제활성을 보일 것으로 예상되므로 5 및 7 위치의 메틸기를 동시에 탈 보호 할 수 있는 방법을 찾는 연구를 진행 중이다.

페놀성 수산기를 가지지 않는 8-acylamido 혹은 arylsulfonylamido 우고닌 유도체(**4a~4c**)는 PGE<sub>2</sub> 생성억제력이 없거나 매우 미약하였다. 그렇지만 5와 7 위치의 메톡시기가 전부(**5a~b**) 혹은 일부(5번 위치) 디메틸화 된 유도체(**6c~h**)에서는 약간의 PGE<sub>2</sub> 생성억제력을 나타내었다. 즉, 페놀기의 복원에 의해 억제활성이 미약하지만 나타났고, 이와 같은 결과로부터 일부(5번 위치) 디메틸화 된 유도체(**6c~h**)의 7번 위치의 메틸기를 제거한

유도체의 경우에는 보다 증가된 PGE<sub>2</sub> 생성 억제활성이 기대된다.

### 감사의 말씀

이 논문은 한국과학재단의 지역대학우수과학자 0103009의 지원에 의해 수행되었으며, 실험에 필요한 물질구조 분석 및 생리 활성 검색에 사용된 기기 및 시설은 강원대학교의 공동실습관 및 강원대학교 종합약학연구소의 도움을 받아 연구되었으므로 이에 감사드립니다.

### 참고문헌

- Liaw, J., Gau, Y. Y. and Chao, Y. C. : Effect of baicalein on tracheal permeability in ovalbumin (OA)-sensitized guinea pigs. *Pharm. Res.* **16**, 1653 (1999).
- Kubo, M., Matsuda, H., Tanaka, M., Kimura, Y., Okuda, H., Higashino, M., Tani, T., Namba, K. and Arichi, S. : Studies on *Scutellariae radix*. VII. Anti-arthritis and anti-inflammatory actions of methanolic extract and flavonoid components from *Scutellariae radix*. *Chem. Pharm. Bull.* **32**, 2724 (1984).
- Lin, C. C. and Shieh, D. E. : The anti-inflammatory activity of *Scutellaria rivularis* extract and its active components, baicalin, baicalein and wogonin. *Am. J. Chim. Med.* **24**, 31 (1996).
- Chi, Y. S., Cheon, B. S. and Kim, H. P. : Effect of wogonin, a plant flavone from *Scutellaria radix*, on the suppression of cyclooxygenase-2 and the induction of inducible nitric oxide synthase in lipopolysaccharide-treated RAW 264.7 cells. *Biochem. Pharmacol.* **61**, 1195 (2001).
- Hope, W. C., Welton, A. F., Fiedler-Nagy, C., Batula-Bernardo, C. and Coffey, J. W. : *In vitro* inhibition of the biosynthesis of slow reacting substance of anaphylaxis (SRS-A) and lipoxygenase activity by quercetin. *Biochem. Pharmacol.* **32**, 367 (1983).
- Kimura, Y., Okuda, H. and Arichi, S. : Effects of baicalein on leukotriene biosynthesis and degranulation in human polymorphonuclear leukocytes. *Biochem. Biophys. Acta* **922**, 278 (1987).
- Wakabayashi, I. and Yasui, K. : Wogonin inhibits inducible prostaglandin E<sub>2</sub> production in macrophages. *Eur. J. Pharmacol.* **406**, 477 (2000).
- You, K. M., Jong, H. G. and Kim, H. P. : Inhibition of cyclooxygenase/lipoxygenase from human platelets by polyhydroxylated/methylated flavonoids isolated from medicinal plants. *Arch. Pharmacol. Res.* **22**, 18 (1999).
- Huang, R. L., Chen, C. C., Huang, H. L., Chang, C. G., Chen, C. F., Chang, C. and Hsieh, M. T. : Anti-hepatitis B virus effects of wogonin isolated from *Scutellaria baicalensis*. *Planta Med.* **66**, 694 (2000).
- Gao, Z., Huang, K., Yang, X. and Xu, H. : Free radical scavenging and antioxidant activities of flavonoids extracted from the radix of *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochim. Biophys. Acta* **1472**, 643 (1999).
- Gao, Z., Huang, K. and Xu, H. : Protective effects of flavonoids in the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HS-SY5Y cells. *Pharmacol. Res.* **43**, 173 (2001).
- Sheih, D. E., Liu, L. T. and Lin, C. C. : Antioxidant and free radical scavenging effects of baicalein, baicalin and wogonin. *Anticancer Res.* **20**, 2961 (2000).
- Cho, J. and Lee, H. K. : Wogonin inhibits excitotoxic and oxidative neuronal damage in primary cultured rat cortical cells. *Eur. J. Pharmacol.* **485**, 105 (2004).
- Chen, Y.-C., Shen, S.-C., Chen, L.-G., Lee, T. J.-F. and Yang, L.-L. : Wogonin, baicalin, and baicalein inhibition of inducible nitric oxide synthase and cyclooxygenase-2 gene expression induced by nitric oxide synthase inhibitors and lipopolysaccharide. *Biochem. Pharmacol.* **61**, 1417 (2001).
- Lim, B. O. : Effects of wogonin, wogonoside and 3,5,7,2',6'-pentahydroxyflavone on chemical mediator production in peritoneal exudate cells and immunoglobulin E of rat mesenteric lymph node lymphocytes. *J. Ethnopharmacology* **84**, 23 (2003).
- Kim, H. C., Kim, Y. S., Kim, S. Y. and Suk, K. H. : The plant flavonoid wogonin suppresses death of activated C6 rat glial cells by inhibiting nitric oxide production. *Neuroscience Lett.* **309**, 67 (2001).
- Kim, Y. O., Leem, K. H., Park, J. Y., Lee, P. J., Ahn, D. K., Lee, B. C., Park, H. K., Suk, K. H., Kim, S. Y. and Kim, H. C. : Cytoprotective effect of *Scutellaria baicalensis* in CA1 hippocampal neurons of rats after global cerebral ischemia. *J. Ethnopharmacology* **77**, 183 (2001).
- Pathak, D., Pathak, K. and Singla, A. K. : Flavonoids as medicinal agents-Recent advances. *Fitoterapia* **62**, 371 (1991).
- Wakabayashi, I. and Yasui, K. : Wogonin inhibits inducible prostaglandin E<sub>2</sub> production in macrophages. *Eur. J. Pharmacol.* **406**, 477 (2000).
- Sheih, D. E., Liu, L. T. and Lin, C. C. : Antioxidant and free radical scavenging effects of baicalein, baicalin and wogonin. *Anticancer Res.* **20**, 2961 (2000).
- Ma, S., Du, J., But, P., Deng, X., Zhang, Y., Ooi, V., Xu, H. and Lee, S. : Antiviral Chinese medicinal herbs against respiratory syncytial virus. *J. Ethnopharmacol.* **79**, 205 (2002).
- Hui, K. M., Huen, M. S. Y., Wang, H. Y., Zheng, H., Erwin, S., Roland, B., Ren, H., Li, Z. W., Wong, J. T.-F. and Xue, H. : Anxiolytic effect of wogonin, a benzodiazepine receptor ligand isolated from *Scutellaria baicalensis* Georgi. *Biochem. Pharmacol.* **64**, 1415 (2002).

- 23) Gao, Z., Huang, K. and Xu, H. : Protective effects of flavonoids in the roots of *Scutellaria baicalensis* Georgi against hydrogen peroxide-induced oxidative stress in HS-SY5Y cells. *Pharmacol. Res.* **43**, 173 (2001).
- 24) Sheih, D. E., Liu, L. T. and Lin, C. C. : Antioxidant and free radical scavenging effects of baicalein, baicalin and wogonin. *Anticancer Res.* **20**, 2961 (2000).
- 25) Kang, S. S., Lee, J. Y., Choi, Y. K., Kim, G. S. and Han, B. H. : Neuroprotective effects of flavones on hydrogen peroxide-induced apoptosis in SH-SY5Y neuroblastoma cells. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 2261 (2004).
- 26) Blatt, A. H. : *m*-Chlorobenzaldehyde. *Org. Syn. CV* **2**, 130 (1943).
- 27) Nortey, S. O., Baxter, E. W., Codd, E. E., Zhang, S.-P. and Reitz, A. B. : Piperazinyl benzamides: Synthesis and affinity for the opioid receptor. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **11**, 1741 (2001).
- 28) Klein, M. and Knig, B. : Synthesis and thermal cyclization of an enediyne-sulfonamide. *Tetrahedron* **60**, 1087 (2004).
- 29) Miller, J. F., Furfine, E. S., Hanlon, M. H., Hazen, R. J., Ray, J. A., Robinson, L., Samano, V. and Spaltenstein, A. : Novel arylsulfonamides possessing sub-pico molar HIV protease activities and potent anti-protease activity against wild-type and drug-resistant viral strains. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 959 (2004).
- 30) Peukert, S., Brendel, J., Pirard, B., Strbing, C. Kleemann, H.-W., Bhme, T. and Hemmerle, H. : Pharmacophore-based search, synthesis and biological evaluation of anthranilic amides as novel blockers of the Kv1.5 channel. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **14**, 2823 (2004).