

할로아세틸시코닌 유도체의 합성 및 항암성 평가

鄭相國* · 金光洙* · 송규용 · 조 훈** · 안병준#

충남대학교 약학대학, *중국 연변대학교 약학대학, **건일약품 주식회사

(Received January 9, 1998)

Haloacetylshikonin Derivatives : Synthesis and Evaluation of Antitumor Activity

Xiang-Guo Zheng*, Guang-Zhu Jin*, Gyu-Yong Song,
Cho Hoon** and Ahn Byung-Zun

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

*College of Pharmacy, Yanbian University, Yanji, Jilin, 133000, China

**Kuhnil Pharmaceutical Co.(LTD), Chunan 333-810, Korea

Abstract—The secondary hydroxy group at side chain of shikonin structure was selectively acylated with various haloacetic acids in presence of dicyclohexylcarbodiimide and 4-dimethylaminopyridine to produce haloacetylshikonin derivatives. The cytotoxicity of monohaloacetylshikonin derivatives against L1210 cells increased in the following order: monochloroacetylshikonin (ED_{50} , 0.142 $\mu\text{g/ml}$) > monobromoacetylshikonin (ED_{50} , 0.158 $\mu\text{g/ml}$) > monoiodoacetylshikonin (ED_{50} , 0.173 $\mu\text{g/ml}$). Introduction of larger halogen atoms decreased the cytotoxic activity, presumably due to steric hinderance. The cytotoxicity of chloroacetylshikonin derivatives was dependent on the number of chlorine atom, thus increasing in the following order: trichloroacetylshikonin (0.032 $\mu\text{g/ml}$) > dichloroacetylshikonin (0.059 $\mu\text{g/ml}$) > monochloroacetylshikonin (ED_{50} , 0.142 $\mu\text{g/ml}$). Thus, the electron-withdrawing effect seems to be important for the cytotoxicity of chloroacetylshikonin derivatives. Consistent with the above, dichloroacetylshikonin (T/C, 182%) and trifluoroacetylshikonin (195%) showed higher T/C values than monochloroacetyl- (T/C, 122%), monobromoacetyl- (T/C, 154%) and monoiodoacetylshikonin (T/C, 117%) derivatives. Haloacetylshikonin derivatives showing lower cytotoxic activities against L1210 cells exhibited lower T/C values. It seems that there is a relationship between the cytotoxicity of haloacetylshikonin and their antitumor activity.

Keywords □ Haloacetylshikonin, synthesis, cytotoxicity, L1210 and S-180 cells, electronic and steric effect.

안등은 자근(紫根, *Lithospermum erythrorhizon*의 뿌리)에서 세포독성 물질을 분리하고 그 구조를 규명한 바 shikonin과 acetylshikonin임을 확인하였다.¹⁾ 그들은 Sarcoma 180 암에 걸린 마우스의 수명 연장 효과를 실험한 결과 acetylshikonin 이 shikonin보다 더 좋은 효과를 보인다고 주장하였다. 이와 같은 acetylation effect에 의한 효과 상승은 acetyl기 도입으로 인한 naphthazarin환의 전자끌개 효과의 강화에

기인된다고 볼 수 있다.

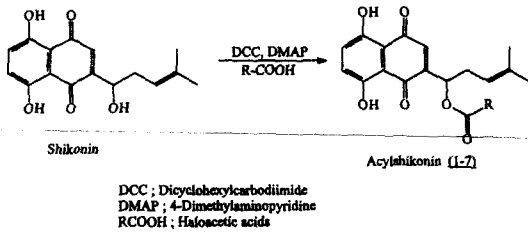
이와같은 관찰을 토대로 본 실험에서는 전자끌개 효과가 큰 haloacetyl기를 shikonin의 측쇄에 도입하여 haloacetylshikonin을 합성하고 그 기들이 항암활성에 어떠한 영향을 미치는가를 알아 보고저 하였다.

실험방법

시약 및 기기

시약 및 용매류는 Aldrich사의 제품을 사용하였고 용매류는 사용하기전에 증류하여 사용하였다. L1210 세

본 논문에 관한 문의는 이 저자에게로
(전화) 042-821-5923 (팩스) 042-823-6566



Scheme 1—Synthetic method of haloacetylshikonin derivatives.

포 배양을 위하여 GIBCO Co.로 부터 Fisher's medium power, sodium carbonate(조식배양용), penicillin-streptomycin액 및 horse serum 등을 구입하여 배지를 만들었고, 검체 용매로는 Merck Co.의 DMSO를 사용하였다. TLC는 precoated silica gel 60 F-254 plate (Merck 제품)를, 칼럼크로마토그래피에는 silica gel 60(70~230 mesh, Merck제품)을 사용하였다. IR 스펙트럼은 Perkin-Elmer 780형(Jasco Peport-100) 적외선 분광광도계로, UV 스펙트럼은 Jasco V-550 UV/VIS 분광광도계로 각각 측정하였다. $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 Varian-Gemini 200으로 측정하였으며 내부표준물질로는 tetramethylsilane (TMS)를 사용하였고 chemical shift는 δ (ppm)단위로 나타내었다. 그리고 모든 화합물의 $^1\text{H-NMR}$ 스펙트럼은 CDCl_3 용매에서 측정하였다. 출발물질인 shikonin은 자근으로부터 분리하여 사용하였다.

입세포 분양 및 실험동물 구입 - L1210세포는 한국 화학연구소로부터, S-180 세포는 생명공학연구소로부터 분양 받았으며, ICR 마우스는 대한실험동물센터로부터 구매하였다.

합성 - 백 등²⁾의 방법에 따라 합성하였다(Scheme 1). Shikonin에 haloacetic acid를 가하고 dicyclohexylcarbodiimide(DCC)와 4-dimethylaminopyridine(DMAP)을 촉매로하여 haloacetylshikonin을 합성하였다.

Acetyl shikonin : (2-(1-(R)-acetoxy-4-methylpent-3-enyl)-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) (1)의 합성

Shikonin 288 mg(1 mmole), dicyclohexylcarbodiimide 226 mg(1.1 mmole), 4-dimethylaminopyridine 30 mg(0.25 mmole)을 25 ml의 2구 플라스크에 넣고 무수 디클로로메탄 3 ml을 넣어 녹인다. 0°C 로 조정한 후, 질소가스 존재하에서 acetic acid 1 mmole을

넣어준 다음 30분간 교반하나 후 상온으로하여 3시간 더 교반하였다. 반응 혼합용액에 hexan 20 ml을 넣어주고 10분간 상온에서 교반하고 방치하여 불용물은 여과한다. 여액을 무수 마그네슘 설페이트로 탈수하고 다시 여과한다. 이 여액을 35°C 온도에서 회전식 감압증류기로 감압 농축하여 조생성물을 얻었다. 조생성물을 실리카겔 (2.5×20 cm) 컬럼에서 hexan:에칠아세테이트 (4:1)의 혼합용매로 용출시켰다. TLC 상 R_f 치 0.54의 적색반점을 보이는 분획을 얻고 건조하여 적색의 acetylshikonin 240 mg을 얻었다.

수득율 : 55.81%

R_f : 0.54(hexane : ethyl acetate=4:1)

mp : $96.0\sim 97.5^\circ\text{C}$

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 12.53(s, 1H, Ar-OH), 12.37(s, 1H, Ar-OH), 7.13(s, 2H, H₆, H₇), 6.94(d, $J=1.0\text{Hz}$, 1H, H₃), 6.02(m, 1H, H₃), 5.10(m, 1H, H₁), 2.46(m, 2H, H₂), 2.13(m, 3H, $\text{CH}_3\text{COO-}$), 1.67(s, 3H, -CH₃), 1.56(s, 3H, -CH₃)

IR(KBr) : 2925, 1740, 1605, 1450 cm^{-1}

Monochloroacetylshikonin : (2-(1-(R)-monochloroacetoxy-4-methylpent-3-enyl)-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) (2)의 합성

Monochloroacetic acid를 사용하여 acetylshikonin의 합성과 같은 반응조건으로 하여 적색의 고형물인 monochloroacetyl shikonin을 얻었다.

수득율 : 67.15%

R_f : 0.54(hexane : ethyl acetate=4:1)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 12.57(s, 1H, Ar-OH), 12.40(s, 1H, Ar-OH), 7.18(s, 2H, H₆, H₇), 7.05(s, $J=1.1\text{Hz}$, 1H, H₃), 6.12(m, 1H, H₃), 5.11(m, 1H, H₁), 4.12(s, 2H, $\text{ClCH}_2\text{COO-}$), 2.57(m, 2H, H₂), 1.69(s, 3H, -CH₃), 1.60(s, 3H, -CH₃)

IR(KBr) : 2925, 1750, 1605, 1450 cm^{-1}

Monobromoacetyl shikonin : (2-(1-(R)-monobromoacetoxy-4-methylpent-3-enyl)-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) (3)의 합성

Monobromoacetic acid를 사용하여 위와 동일한 방법으로 적색 침전물인 monobromoacetyl shikonin을 얻었다.

수득율 : 52.38%

R_f : 0.55(hexane : ethyl acetate=4:1)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 12.56(s, 1H, Ar-OH), 12.40(s, 1H, Ar-OH), 7.18(s, 2H, H₆, H₇), 7.07(s, J=1.1Hz, 1H, H₃), 6.09(m, 1H, H₃), 5.15(m, 1H, H₁), 3.88(s, 2H, BrCH₂COO-), 2.56(m, 2H, H₂), 1.71(s, 3H, -CH₃), 1.59(s, 3H, -CH₃)

IR(KBr) : 2920, 1745, 1610, 1450 cm^{-1}

Monoiodoacetyl shikonin : (2-(1-(R)-monoiodoacetoxy-4-methylpent-3-enyl)-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) (4)의 합성

Monoiodoacetic acid를 사용하여 위와 동일한 방법으로 적색 침전물인 monoiodoacetyl shikonin을 얻었다.

수득율 : 38.62%

R_f =0.56(hexane : ethyl acetate=4:1)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 12.60(s, 1H, Ar-OH), 12.44(s, 1H, Ar-OH), 7.21(s, 2H, H₆, H₇), 7.15(s, J=1.1 Hz, 1H, H₃), 6.06(m, 1H, H₃), 5.18(m, 1H, H₁), 3.78(s, 2H, ICH₂COO-), 2.58(m, 2H, H₂), 1.73(s, 3H, -CH₃), 1.62(s, 3H, -CH₃)

IR(KBr) : 2920, 1740, 1610, 1450 cm^{-1}

Dichloroacetyl shikonin : (2-(1-(R)-dichloroacetoxy-4-methylpent-3-enyl)-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) (5)의 합성

Dichloroacetic acid를 사용하여 위와 동일한 반응 조건으로 적색 침전물인 dichloroacetyl shikonin을 얻었다.

수득율 : 63.92%

R_f : 0.59(hexane : ethyl acetate=4:1)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 12.48(s, 1H, Ar-OH), 12.31(s, 1H, Ar-OH), 7.13(s, 2H, H₆, H₇), 7.09(s, J=1.1Hz, 1H, H₃), 6.07(m, 1H, H₃), 5.21(m, 1H, H₁), 5.08(s, 1H, Cl₂CHCOO-), 2.55(m, 2H, H₂), 1.62(s, 3H, -CH₃), 1.53(s, 3H, -CH₃)

IR(KBr) : 2915, 1745, 1615, 1450 cm^{-1}

Trichloroacetyl shikonin : (2-(1-(R)-trichloroacetoxy-4-methylpent-3-enyl)-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) (6)의 합성

Trichloroacetic acid를 사용하여 위와 동일한 반응

조건으로 적색 침전물인 trichloroacetyl shikonin을 얻었다.

수득율 : 75.20%

R_f : 0.64(hexane : ethyl acetate=4:1)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 12.56(s, 1H, Ar-OH), 12.37(s, 1H, Ar-OH), 7.18(s, 2H, H₆, H₇), 7.15(d, J=1.0Hz, 1H, H₃), 6.16(m, 1H, H₃), 5.23(m, 1H, H₁), 2.65(m, 2H, H₂), 1.69(s, 3H, -CH₃), 1.60(s, 3H, -CH₃)

IR(KBr) : 2920, 1765, 1610, 1230 cm^{-1}

Trifluoroacetyl shikonin : (2-(1-(R)-trifluoroacetoxy-4-methylpent-3-enyl)-5,8-dihydroxy-1,4-naphthoquinone) (7)의 합성

Trifluoroacetic acid를 사용하여 위와 동일한 반응 조건으로 적색 침전물인 trifluoroacetyl shikonin을 얻었다.

수득율 : 45.37%

R_f : 0.58(hexane : ethyl acetate=4:1)

$^1\text{H-NMR}(\text{CDCl}_3)$: δ 12.58(s, 1H, Ar-OH), 12.41(s, 1H, Ar-OH), 7.22(s, 2H, H₆, H₇), 7.17(s, J=1.0Hz, 1H, H₃), 6.18(m, 1H, H₃), 5.25(m, 1H, H₁), 2.68(m, 2H, H₂), 1.70(s, 3H, -CH₃), 1.63(s, 3H, -CH₃)

IR(KBr) : 2925, 1750, 1605, 1450 cm^{-1}

L1210 세포를 이용한 *in vitro* 세포독성 실험 - Thayer등³⁾의 방법에 준하여 실험하였다. 즉 주사용 증류수에 10.5 g의 Fisher s medium, horse serum 100 ml, NaHCO₃ 1.125 g, Penicillin G(100,000 Unit) 그리고 Streptomycin(100 mg)을 넣어 용해시키고 0.1N-염산 수용액으로 pH를 7.20로 조절한 뒤 전채량을 1 리터로 하였다. 여기에 최종 농도가 10%가 되도록 horse serum을 첨가한 후 세균 여과기로 여과하여 사용한 것을 배지로 하였다.

배지에 L1210세포를 가해 2~3×10⁵ cells/ml의 세포 농도가 되게 조절한 후 24시간 배양하면 약 0.8~1.0×10⁶ cells/ml의 세포 농도가 된다. 이 spinner culture를 세포독성 실험을 하기 바로 전에 새로 만든 배지로 희석하여 5×10⁴ cell/ml의 세포 농도가 되도록 하였다(세포현탁액).

시료는 실험하기 바로 전에 일정 농도의 에탄올 또는 DMSO(dimethylsulfoxide) 용액으로 만들었고 이 시

료용액 0.1 ml와 금방 조제한 배지 0.9ml을 혼합하고 이 시료용액을 다시 같은 배지로 10배 희석하였다. 이 시료용액을 다시 2배 희석한다(시료희석액). 24 Well plate에 위에서 조제한 세포 현탁액 (5×10^4 cell/ml) 1.5 ml씩 넣고 시료희석액을 각각 60, 30, 15 μ l를 가하여 시험군으로 하였고, 1.5 ml의 세포현탁액 만을 넣은 것을 대조군으로 하였다. 시험군과 대조군을 CO₂ incubator중 37°C에서 48시간 배양 후 hemacytometer를 사용하여 세포수를 계산하였다.

ED₅₀값은 대조군의 50% 수준으로 암세포의 성장을 억제하는 시료의 농도(μ g/ml)로 하였다.

S-180 세포를 이식한 ICR 마우스의 수명연장 효과

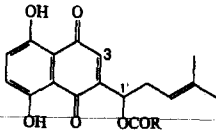
측정⁶⁾ - ICR 마우스 복강에서 7일간 배양된 S-180 세포를 복수와 함께 취하여 멸균된 냉 생리식염수에 가하고 400×g으로 2분간 원심분리하여 세포 침전물을 분리했다. 분리된 세포침전물을 냉 멸균생리식염수에 부유시켜 다시 원심분리하여 상정액을 제거한 후 남은 침전물 중 혼재되어 있는 적혈구를 제거하고 가능한 한 S-180 세포만을 취한다. 동일한 방법으로 3회 선별한 후 hemacytometer로 세어 10^7 cells/ml의 농도가 되도록 세포 부유액을 만든다. 이 부유액 0.1 ml씩을 ICR 마우스 복강내에 이식하였다. 이식 24시간 후 한 군이 8 마리씩이 되게 시험군과 대조군으로 나누었다. 시료는 50% PEG-200에 필요한 농도를 용해 또는 유화상태로하고 그 중 0.1 ml을 취하여 시험군의 복강에 주사하였으며 대조군에는 동량의 용제를 주사하였다. 주사 일정은 암세포 이식후 24시간 후 부터 0.1 ml씩 7일간 연속 투여하였다. 생존비(T/C%)는 다음 식에 의하여 산출하였다.

$$\text{생존비 (TC\%)} = \frac{\text{처치군의 평균 생존일수}}{\text{대조군의 평균 생존일수}} \times 100$$

결과 및 고찰

합성 및 구조 - 백 등의 방법에 따라 shikonin의 측쇄에 있는 secondary OH기를 선택적으로 haloacetyl화였다. Haloacetyl화의 수득율은 45~75% 이었다. Monoacetyl화 반응에서 보면 공간적으로 장애가 큰 monoiodoacetyl화에서 수율이 38%로 가장 저조하였으며 이 보다 장애를 작게 받는 monochloroacetyl화의 경우 63%의 높은 수율을 보였다. Chloroacetic acid의 경우에는 공간적 장애 보다 산도가 수율향상에

Table I - ¹H Chemical shifts of shikonin derivatives



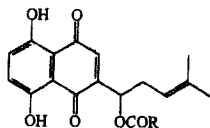
Functional group	¹ H-NMR chemical shift (ppm)		
	R	H ₃	H _{1'}
Acetyl	2.13 (CH ₃)	6.95	5.10
Monochloroacetyl	4.12 (CH ₂ Cl)	7.05	5.11
Bromoacetyl	3.88 (CH ₂ Br)	7.07	5.15
Iodoacetyl	3.78 (CH ₂ I)	7.15	5.18
Dichloroacetyl	5.08 (CHCl ₂)	7.09	5.21
Trichloroacetyl		7.15	5.23
Trifluoroacetyl		7.17	5.25

더 중요한 역할을 하였음을 알 수 있다. 예컨대 monochloroacetyl화의 경우 산물의 수율이 63%인데 비하여 trichloroacetyl화시에는 75%의 고수율로 산물이 생성되었다.

합성한 물질들의 ¹H-NMR 상의 특징을 Table I에 나타내었다. Acetylshikonin의 acetyl기의 세 개의 수소는 2.13 ppm인데 비해 haloacetylshikonin의 haloacetyl수소는 모두가 저자장으로 이동하여 나타났다. Monohaloacetylshikonin의 경우를 보면 monochloroacetyl기의 경우 4.12 ppm, monobromoacetyl기의 경우 3.88 ppm 그리고 monoiodoacetyl기의 경우에는 3.78 ppm에 나타남으로써 전자끌개 효과가 커지는 방향으로 저자장으로 이동하는 것을 볼 수 있다. 두 개의 Cl원자가 치환될 경우에는 남은 한 개의 수소는 5.91 ppm로 더욱 더 저자장으로 이동되는 것을 볼 수 있다. H-1'의 이동을 보면 monochloroacetyl기가 결합된 경우 5.11 ppm인데 비하여 dichloroacetyl과 trichloroacetyl기가 결합된 것은 각각 5.21 및 5.23 ppm에 나타남으로써 전자 끌개 효과와 평행관계에 있음을 확인할 수 있었다. 마찬가지로 naphthazarin환의 Michael acceptor의 강도를 나타내는 H-3의 화학적 이동도 같은 경향을 나타낸다. 이와는 반대로 halogen원소의 크기가 클수록 H-3 및 H-1' 모두가 저자장으로 이동한다. 예컨대 monochloroacetyl기가 결합된 H-3은 7.05 ppm에 나타나는데 비하여 monoiodoacetyl기가 결합된 경우 이 수소는 7.15 ppm에 나타난다. 이는 아마도 크기가 큰 요드의 paramagnetic field effect 때문인 것으로 풀이된다.

L1210 세포에 대한 세포독성 - 합성한 haloace-

Table II—Cytotoxicity and antitumor activity of haloacetylshikonins



R	ED ₅₀ (µg/ml)	dose (mg/kg/day)	T/C %	No. of survivors on 50 days
Methyl	0.030±0.011	3.12	176	1/7
Chloromethyl	0.142±0.022	3.59	122	1/8
Bromomethyl	0.158±0.031	3.94	154	0/8
Iodomethyl	0.173±0.042	4.13	117	1/8
Dichloromethyl	0.059±0.014	4.46	182	1/7
Trichloromethyl	0.032±0.015	4.07	146	0/8
Trifluoromethyl	0.097±0.012	4.35	195	2/8

tylshikonin 유도체들의 세포독성을 측정하고 그 결과를 Table II에 표시하였다. 이들 유도체의 ED₅₀ 값의 범위는 0.032~0.260 µg/ml으로서 비교적으로 우수하였다. 항암성 물질이 L1210세포에 대하여 ED₅₀값이 7 µg/ml까지가 유효범위인 것을 인정한다면 위 세포독성은 상당히 높은 편이다. 그러나 이들 세포독성이 acetylshikonin의 ED₅₀=0.030 µg/ml 보다는 약하였으므로 할로겐화가 세포독성을 상승시키지는 않았다.

Haloacetylshikonin유도체 간에는 haloacetyl기의 성질에 따라 세포독성의 격차가 있음을 알 수 있다. 즉, monochloroacetylshikonin의 경우 0.142 µg/ml인데 비해 dichloroacetyl- 와 trichloroacetylshikonin은 각각 0.059와 0.034 µg/ml으로 치환 염소의 수가 증가할수록 세포독성이 증가하는 경향을 보였다. 이 세포독성의 증가는 측쇄의 전자끌개 효과의 증가로 인한 세포독성 기본체인 naphthazarin환의 친전자성의 증가에 따른 것이라 생각된다. 즉, 세포친핵체에 대한 naphthazarin 환의 arylation 능력이 커졌기 때문인 것으로 추측된다. 또 한편 halogen의 종류에 따라서도 그 세포독성이 다르게 나타났으며, 그 순서는 다음과 같다: monochloroacetylshikonin(ED₅₀, 0.142 µg/ml) > monobromoacetylshikonin(ED₅₀, 0.158 µg/ml) > monoiodoacetylshikonin(ED₅₀, 0.173 µg/ml). Halogen원소의 크기가 클수록 세포독성이 감소하는 경향을 보이고 있다. 이와 같은 세포독성 감소를 위하여는 할로겐 원소의 크기에 따른 전자 끌개효과와 더불어 공간적 장애의 증가도 중요한 요인으로 작용하는 것으로 보인다.

S-180 암에 걸린 ICR 마우스에 대한 수명연장 효과

- S-180 암에 걸린 ICR 마우스에 대한 haloacetylshikonin유도체의 수명연장 효과[T/C(%)]를 관찰하였던 바, 그 결과를 Table II에 나타내었다. 전반적으로 보아 세포독성이 약하였던 monoiodoacetylshikonin이 역시 낮은 T/C값을 보였다. haloacetylshikonin유도체중 trifluoroacetylshikonin과 dichloroacetylshikonin만이 T/C=195%와 182%로 acetylshikonin의 176%^{5,6)} 보다 높은 항암성을 보였다. Trifluoroacetylshikonin을 주사한 동물 8마리중에는 50일 이상 살아남은 동물이 2마리나 됨으로써 그 항암성이 질적으로 우수하다고 판단된다.

감사의 말씀

본 연구는 서울대학교 신의약개발 연구센터(과학재단지원)와 건일제약 주식회사의 지원에 의하여 이루어졌다.

문헌

- 1) Kim, H., Ahn, B. Z. : Antitumor effect acetylshikonin and some synthesized naphthazarins on L1210 and S-180 systems. *Yakhak Hoeji* **34(4)**, 262 (1990).
- 2) Ahn, B. Z. and Baik, K. U., Kweon, G. R., Lim, K. and Hwang B. D. ylshikonin analogues :

- Synthesis and inhibition of DNA topo isom-
erase I. *Med. Chem* **8(6)** 1044 (1995).
- 3) ayer, P. S., Himmelfarb, P. and Watt, G. L. : Cy-
totoxicity assay with L1210 cell *in vitro* and KB
cells *in vitro*. *Cancer. Chemother. Rep.* **2**, 1 (1975)
 - 4) Kim, S. H., Song, G. Y., Jin, G. Z. and Ahn, B.
Z. : Antitumor activity of arylacetylshikonin
analogure. *Arch. Pharm. Res.* **19(5)**, 416 (1996)
 - 5) Ahn, B. Z., Song, G. Y., Baik, K. U. and Sok D.
E. : Cytotoxicity of acylshikonin analogues
against L1210 cells and their antitumor activity
against sarcoma tumors. *Koren J. of Med. Chem.* **6**,
98 (1996).
 - 6) Ahn, B. Z. and Sok, D. E. : Michael acceptors
as a tool for anticancer drug design. *Current
Pharmaceutical design* **2**, 247 (1996).