

루판 유도체의 합성 및 세포독성 -I

유영제 · 김 용 · 안병준*

충남대학교 약학대학

(Received July 18, 2002; Revised October 7, 2002)

Lupane Derivatives-I: Synthesis and Cytotoxic Activity

Young-Jae You, Yong Kim and Byung-Zun Ahn*

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

Abstract — To observe the structure-activity relationship of lupane derivatives both on cytotoxic and antiangiogenic activity, twelve lupane derivatives were prepared; their antiangiogenic and cytotoxic activities were evaluated. Among them, four compounds were more cytotoxic than betulinic acid. Carboxylic acid at C28 seemed to be essential for cytotoxic activity. But, a selective cytotoxicity toward SK-MEL-2 was not observed. As for antiangiogenic activity, none of the compounds except lupeol showed antiangiogenic activity at 30 $\mu\text{g/mL}$.

Keywords □ Lupane, lupeol, betulin, betulinic acid, cytotoxicity, antiangiogenesis

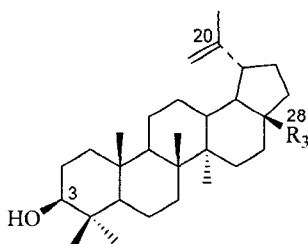
Lupane 유도체는 식물 중에 많이 존재하며 다양한 생리 활성을 나타낸다. Lupane 유도체중의 하나인 betulinic acid는 anti-HIV^{1,2} 및 항염작용을 나타낸다.³ 정 등 및 Pisha 등은 betulinic acid⁷-인체의 피부암세포인 SK-MEL-2에 대해 선택적인 항암활성을 나타낸다고 보고한 바 있다.^{4,5} 이 물질의 세포독성은 세포의 자연 소멸과정인 apoptosis를 통해 일어나는 것으로 알려져 있다.^{5,6} 최근에 본 실험자들은 lupane 유도체의 대표적 물질중의 하나인 lupeol이 신생혈관형성의 *in vitro* 모델의 하나인 HUVE(human umbilical vein endothelial)세포의 튜브형성에 대

해 억제 작용을 나타냄을 관찰한 바 있다.⁷ 이러한 실험결과로부터 lupane 유도체들은 apoptosis 유발에 의한 암세포에 대한 세포독성이나 신생혈관형성을 억제하는 작용에 의해 항암활성을 나타낼 것으로 기대하였다. 따라서 본 실험에서는 루판구조에서 구조변형이 가능한 3번, 20번과 28번의 기능기들의 구조변화와 세포독성 및 혈관형성억제 작용과의 관계를 관찰하고자 하였다.

실험재료 및 방법

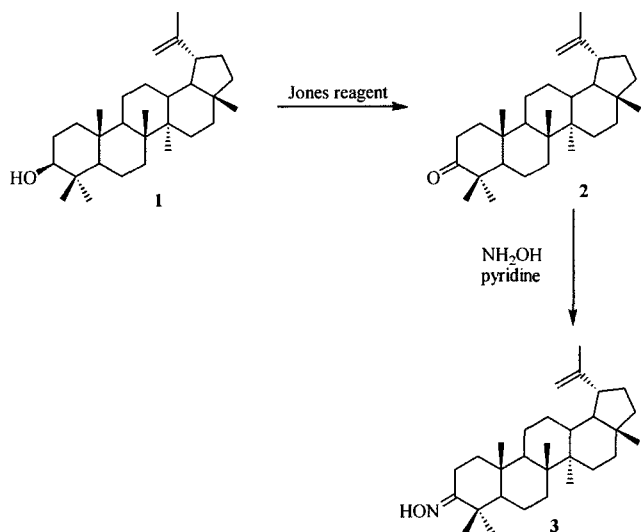
시약 및 기기

Lupeol은 베트남에서 채집한 *Bombax ceiba*의 수피로부터 분리하여 사용하였다. 출발물질로 사용한 betulin 및 각종 시약은 Sigma-Aldrich사로부터 구입하여 사용하였고, 용매는 특급 또는 필요에 따라 정제하여 사용하였다. HUVE세포는 ATCC (American Type Culture Collection, USA)에서 구입하여 사용하였고, SK-MEL-2, B16F10 및 A-549 세포는 생명공학연구원(KRIBB) 으로부터 분양 받아 사용하였다. 핵자기공명 스펙트라는 JEOL(90 MHz) 분광광도계를 이용하여 tetramethylsilane (TMS)을 내부 표준물질로 하여 측정하였으며, 화학적 이동(chemical shift)은 δ 단위로 coupling constant는 Hz로 나타내었다. 박층크로마토그래프(TLC)는 silica gel(Kieselgel 60F254, Merck)을 사용하였고, 칼럼크로마토그래피에는 Kieselgel 60 (70~230 mesh, Merck)를 사용하였다.



Lupeol: R₃ = CH₃
Betulin: R₃ = CH₂OH
Betulinic acid: R₃ = COOH

*본 논문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 042-821-5923 (팩스) 042-823-6566
(E-mail) ahnbj@cnu.ac.kr or ahnbj@hotmail.com



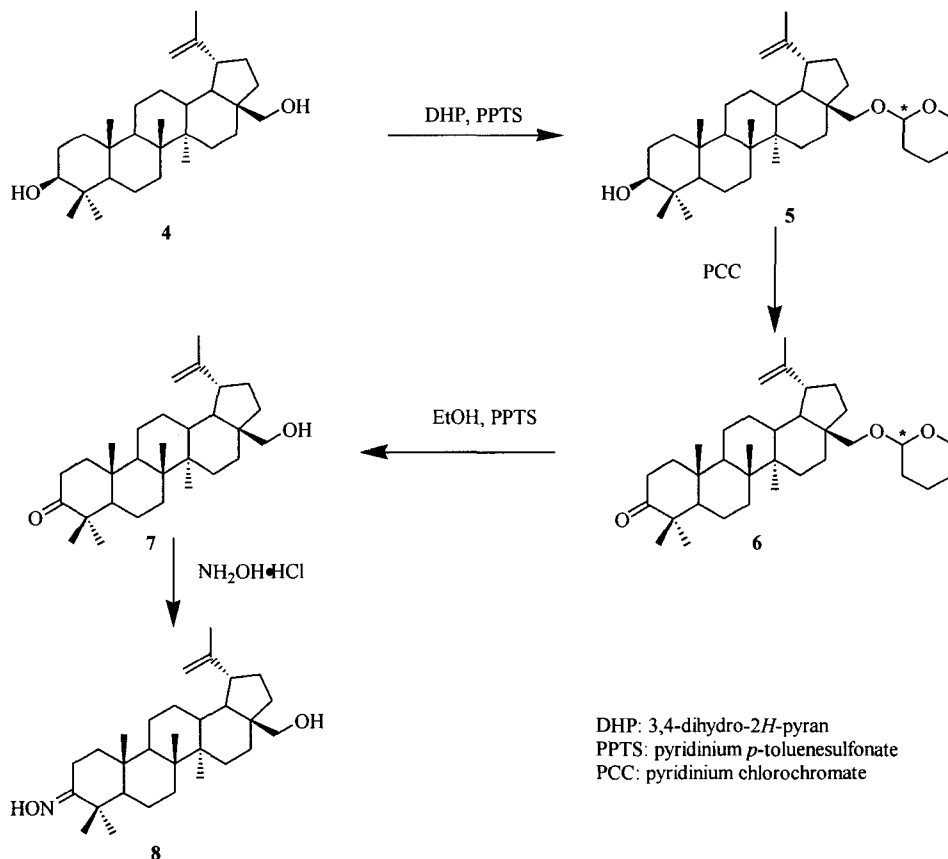
Scheme 1 - Synthetic pathway of lupeol derivatives.

Lupeol 유도체의 합성 (1~3)

3-Oxo-lupeol-20(29)-ene (2)의 합성 - 3β -Hydroxy-lupeol-20(29)-ene (1) 170 mg (0.4 mmol)을 acetone 18 mL에 녹이고 Jones' reagent 0.28 mL를 0°C에서 적가하고 20분 동안 교반하였다. 반

응액에 과량의 methanol을 가한 후 acetone을 감압하에서 제거하였다. 남은 용액에 물을 가하고 ethyl acetate로 3회 추출하였다. 추출된 ethyl acetate 층을 물로 3회 세척하고 무수망초로 탈수한 후, 감압농축하여 생성되는 조생성물을 silica gel column에서 hexane : ethyl acetate(2:1)의 혼합용매로 분리하여 백색의 고체 115 mg (0.27 mmol)을 분리하였다: 수율 68%, $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.73, 4.62 (2H, 2 \times br s; H_2 -29), 2.25-2.55 (2H, m; H_2 -2); $^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 218.1 (C-3), 150.8 (C-20), 109.4 (C-29), 60.4, 54.9, 49.8, 48.2, 47.9, 47.3, 42.8, 40.8, 40.0, 39.6, 38.2, 36.9, 35.5, 34.1, 33.6, 29.7, 27.4, 26.6, 25.1, 21.5, 21.0, 19.7, 19.3, 18.0, 15.8, 14.5, 14.2.

3-Hydroxyimino-lupeol-20(29)-ene (3)의 합성 - 3-Oxo-lupeol-20(29)-ene (2) 212 mg (0.5 mmol)과 hydroxylamine hydrochloride 208 mg (3.0 mmol)을 ethanol과 pyridine의 혼합용매 (5:1) 20 mL에 녹인 후 2시간 동안 환류하였다. 반응액에 50 mL의 ethyl acetate를 가한 10% HCl 용액으로 3회, brine으로 3회 세척 후 망초로 탈수, 감압농축하여 조생성물을 얻었다. 이 조생성물을 silica gel column에서 hexane : ethyl acetate (4:1)의 혼합용매로 분리하여 백색의 고체 180 mg (0.41 mmol)을 분리하였다: 수율 82%, $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.72, 4.60



Scheme 2 - Synthetic pathway of betulin derivatives.

DHP: 3,4-dihydro-2H-pyran
PPTS: pyridinium *p*-toluenesulfonate
PCC: pyridinium chlorochromate

(2H, 2×br s; H₂-29), 2.25-2.50 (2H, m; H₂-2); ¹³C-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 167.3 (C-3), 150.9 (C-20), 109.4 (C-29), 55.5, 50.0, 48.3, 48.0, 43.0, 42.9, 40.3, 40.0, 38.8, 38.1, 37.2, 35.5, 33.9, 29.8, 29.7, 27.4, 27.3, 25.2, 22.9, 21.2, 19.3, 19.1, 18.1, 17.2, 15.9, 15.8, 14.5.

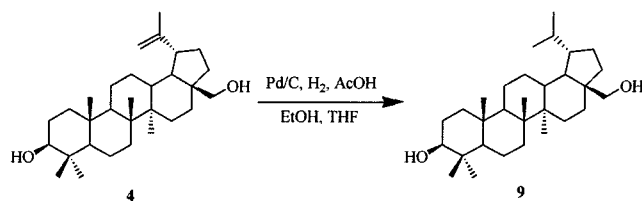
Betulin 유도체의 합성 (4, 7-8) - Betulin 유도체의 합성은 Kim 등⁸⁾의 방법을 따랐다.

3β-Hydroxy-lup-20(29)-en-28-oyl tetrahydropyranyl ether (5)의 합성 - 3β-Hydroxy-lup-20(29)-en-28-ol (4) 450 mg (1.0 mmol)의 dichloromethane 15 mL용액에 3,4-dihydro-2H-pyran (DHF) 95 mg(1.12 mmol)과 pyridinium *p*-toluenesulfonate 30 mg(0.12 mmol)을 넣고 질소가스 하에서 상온에서 72시간 동안 교반하였다. TLC로 반응을 확인 후 5 mL의 포화 sodium bicarbonate를 서서히 가한 후 dichloromethane 40 mL를 더 가했다. 물 50 mL로 3회 세척 후, 무수망초로 탈수, 감압농축하여 조생성물을 얻었다. 이것을 silica gel column에서 hexane : ethyl acetate(4:1)의 혼합용매로 정제하여 diastereomeric mixture로서 무색의 유상물질 489 mg(0.93 mmol)을 얻었고 이를 더 이상의 분리과정 없이 바로 다음 반응에 이용하였다: 수율 93%.

3-Oxo-lup-20(29)-en-28-oyl tetrahydropyranyl ether (6)의 합성 - 3β-Hydroxy-lup-20(29)-en-28-oyl tetrahydropyranyl ether (5) 310 mg(0.59 mmol)을 dichloromethane 30 mL에 녹인 후 pyridinium chlorochromate 465 mg(2.2 mmol)을 가한 후 상온에서 2시간 동안 교반하였다. 반응액을 florisil을 통과하여 여과 후 농축하여 조생성물을 얻었다. 이것을 silica gel column에서 hexane : ethyl acetate (10:1)의 혼합용매로 정제하여 무색의 유상물질 190 mg(0.36 mmol)을 얻었다: 수율 61%.

3-Oxo-lup-20(29)-en-28-ol (7)의 합성 - 3-Oxo-lup-20(29)-en-28-oyl tetrahydropyranyl ether (6) 235 mg(0.59 mmol)과 pyridinium *p*-toluenesulfonate 80 mg(0.32 mmol)을 ethanol 10 mL에 녹인 후 상온에서 36 시간 동안 교반하였다. 반응액에 포화 sodium bicarbonate 수용액 3 mL를 가하고 ethyl acetate 30 mL로 추출하였다. ethyl acetate층을 물로 3회 세척, 무수망초로 건조, 여과 후 감압농축하여 조생성물을 얻었다. 이 조생성물을 silica gel column에서 hexane : ethyl acetate (5:1)의 혼합용매로 정제하여 백색의 고체 190 mg (0.43 mmol)을 얻었다: 수율 95%, ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 4.68, 4.60 (2H, 2×br s; H₂-29), 3.81, 3.33 (2H, 2×d, J=14.0 Hz, H-28), 2.30-2.50 (2H, m; H₂-2); ¹³C-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 212.7 (C-3), 144.9 (C-20), 104.3 (C-29), 62.5, 55.0, 49.4, 44.3, 43.2, 42.3, 41.9, 37.3, 35.4, 34.1, 32.0, 31.4, 28.7, 28.5, 28.0, 24.8, 24.3, 23.7, 21.6, 21.2, 20.1, 19.7, 15.9, 15.6, 14.2.

3-Hydroxyimino-lup-20(29)-en-28-ol (8)의 합성 - 3-Oxo-lup-20(29)-en-28-ol (7) 150 mg (0.34 mmol)을 사용하여 3-



THF: tetrahydrofuran

Scheme 3 - Reduction of betulin.

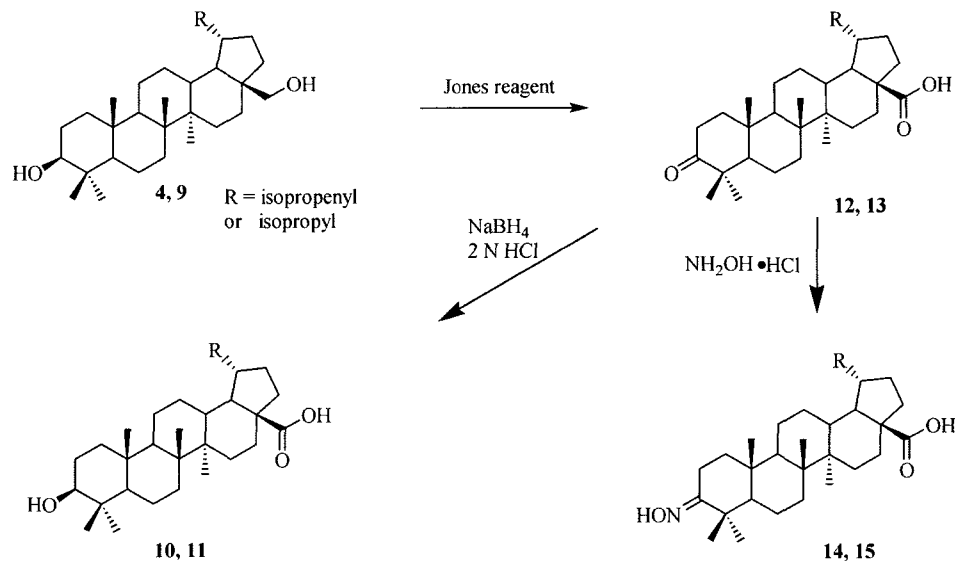
hydroxyimino-lup-20(29)-ene의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 123 mg (0.27 mmol)을 얻었다: 수율 78%, ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 4.69, 4.60 (2H, 2×br s; H₂-29), 3.81, 3.33 (2H, 2×d, J = 14.0 Hz, H-28), 2.20-2.45 (2H, m; H₂-2); ¹³C-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 161.8 (C-3), 145.0 (C-20), 104.3 (C-29), 57.3, 55.0, 50.0, 44.5, 43.3, 42.3, 37.3, 35.5, 34.8, 33.3, 31.9, 31.7, 29.4, 28.5, 28.3, 24.9, 24.2, 23.7, 21.9, 21.6, 19.8, 17.4, 15.7, 13.6, 13.4.

Betulinic acid 유도체의 합성 (10~15)

Evers 등⁹⁾의 방법에 따랐으나 용매로는 methanol 대신 무수 ethanol : acetic acid : tetrahydrofuran (1:1:1)의 혼합용매를 사용하였다.

3β-Hydroxy-lup-28-ol (9)의 합성 - 3β-Hydroxy-lup-20(29)-en-28-ol (4) 1000 mg (2.3 mmol)을 ethanol, acetic acid와 tetrahydrofuran의 혼합용매 (1:1:1) 200 mL에 녹인 후 1 g의 10% Pd/C을 가하고 1 기압의 hydrogen gas 하에서 2 시간 동안 상온에서 진탕하였다. 반응액을 여과 후 감압 하에 tetrahydrofuran를 날려 보내고 ethyl acetate 200 mL로 추출하였다. Ethyl acetate 추출액을 물로 3회 세척, 무수망초로 건조, 농축하여 백색의 고체 970 mg (2.2 mmol)을 얻었다: 수율 95%, ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 3.81, 3.33 (2H, 2×d, J=14.0 Hz; H₂-28), 3.10-3.20 (1H, m, H-3).

3-Oxo-lup-20(29)-en-28-oic acid (12)의 합성 - Betulin (3β-hydroxy-lup-20(29)-en-28-ol, 4) 442 mg (1 mmol)을 25 mL의 acetone에 녹이고 0°C에서 교반하면서 Jones reagent를 30 분 동안 적가한 후 1 시간 30 분 동안 교반한다. 반응용액에 10 mL의 methanol을 가하여 반응을 종결시키고 5 분간 교반한 후 15 mL의 물을 가했다. 반응용액을 감압농축하여 유기용매를 제거한 후 30 mL의 ethyl acetate로 3 회 추출하고 물로 3 회 세척 후 무수망초로 탈수, 감압농축하였다. 생성된 조생성물을 silica gel column으로 hexane : ethyl acetate (5:1)의 혼합용매로 분리하여 백색의 고체 309 mg (0.68 mmol)을 분리하였다: 수율 68%, ¹H-NMR (90 MHz, CDCl₃): δ 4.72, 4.60 (2H, 2×br s; H₂-29), 2.25-2.55 (2H, m; H₂-2); ¹³C-NMR (90 MHz,



Scheme 4 – Synthetic pathway of betulinic acid derivatives.

CDCl_3): δ 181.4 (C-28), 167.6 (C-3), 150.5 (C-20), 109.7 (C-29), 56.4, 54.9, 49.8, 49.2, 47.3, 46.8, 42.5, 40.6, 39.6, 38.5, 37.0, 36.9, 34.1, 33.6, 32.1, 30.5, 29.7, 26.6, 25.5, 21.3, 21.0, 19.6, 19.3, 15.9, 15.8, 14.6, 14.5.

3-Oxo-lupan-28-oic acid (13)의 합성 – Dihydrobetulin (β -hydroxy-lupan-28-ol, 9) 440 mg (1 mmol)을 이용하여 3-oxo-lup-20(29)-en-28-oic acid (12)의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 308 mg (0.70 mmol)을 분리하였다: 수율 70%, $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 2.25-2.55 (2H, m; H_2 -2); $^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 218.2 (C-3), 181.3 (C-28), 56.8, 54.9, 49.6, 48.7, 47.3, 44.1, 42.6, 40.6, 39.5, 38.3, 37.4, 36.9, 34.1, 33.7, 32.0, 29.7, 26.9, 26.6, 23.0, 22.7, 21.4, 21.0, 19.6, 15.9, 14.6, 14.5.

3-Hydroxyimino-lup-20(29)-en-28-oic acid (14)의 합성 – 3-Oxo-lup-20(29)-en-28-oic acid (10) 200 mg (0.44 mmol)을 사용하여 3-hydroxyimino-lup-20(29)-ene (3)의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 159 mg (0.34 mmol)을 얻었다: 수율: 78%, $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.72, 4.60 (2H, 2×br s; H_2 -29), 2.20-2.50 (2H, m; H_2 -2); $^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 181.3 (C-28), 167.6 (C-3), 150.5 (C-20), 109.7 (C-29), 56.2, 55.5, 50.1, 49.2, 46.9, 42.5, 41.7, 40.7, 40.3, 38.7, 38.3, 37.1, 32.2, 31.8, 30.6, 29.7, 29.2, 27.3, 25.5, 22.9, 19.3, 17.4, 16.2, 16.0, 15.8, 14.6.

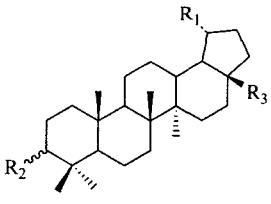
3-Hydroxyimino-lupan-28-oic acid (15)의 합성 – 3-Oxo-lupan-28-oic acid (11) 160 mg (0.35 mmol)을 사용하여 3-hydroxyimino-lup-20(29)-ene (3)의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 121 mg (0.26 mmol)을 얻었다: 수율 75%, $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 2.10-2.30 (2H, m; H_2 -2); $^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 181.3 (C-28), 167.6 (C-3), 150.5 (C-20), 109.7 (C-29), 56.2, 55.5, 50.1, 49.2, 46.9, 42.5, 41.7, 40.7, 40.3, 38.7, 38.3, 37.1, 32.2, 31.8, 30.6, 29.7, 29.2, 27.3, 25.5, 22.9, 19.3, 17.4, 16.2, 16.0, 15.8, 14.6.

CDCl_3): δ 181.3 (C-28), 167.6 (C-3), 56.2, 55.5, 50.1, 49.2, 46.9, 42.5, 41.7, 40.7, 40.3, 38.7, 38.3, 37.1, 32.2, 31.8, 30.6, 29.7, 29.6, 29.2, 27.3, 25.5, 22.9, 20.6, 19.3, 17.4, 16.2, 16.0, 15.8, 14.6.

β -Hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid (10)의 합성 – 3-Oxo-lup-20(29)-en-28-oic acid (12) 227 mg (0.5 mmol)을 tetrahydrofuran 10 mL에 녹인 후 0°C 에서 sodium borohydride 200 mg (5 mmol)을 가한 후 상온에서 10 시간 동안 교반하였다. 2 N HCl 3 mL를 가해 반응을 종결시킨 후 반응 용액을 감압농축하여 약 50%의 tetrahydrofuran를 제거한 후 50 mL의 ethyl acetate로 희석 한 후 물 40 mL로 3회 세척 후 무수망초로 탈수, 감압농축하여 조생성물을 얻었고 이를 methanol을 이용하여 재결정하여 백색의 고체 169 mg (0.37 mmol)을 얻었다: 수율 73%, $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.65, 4.53 (2H, 2×br s; H_2 -29), 3.20-3.40 (1H, m; H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 181.4 (C-28), 150.8 (C-20), 107.8 (C-29), 79.7 (C-3), 56.8, 55.8, 51.0, 49.7, 47.3, 42.9, 41.2, 39.3, 39.2, 38.9, 37.7, 37.5, 34.8, 32.6, 31.0, 30.2, 28.4, 27.9, 26.0, 21.3, 19.9, 18.8, 16.6, 16.5, 15.8, 15.2.

β -Hydroxy-lupan-28-oic acid (11)의 합성 – 3-Oxo-lupan-28-oic acid (13) 200 mg (0.54 mmol)를 사용하여 β -hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid (12)의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 187 mg (0.41 mmol)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 3.10-3.30 (1H, m; H-3); $^{13}\text{C-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 181.3 (C-28), 79.8 (C-3), 56.6, 55.2, 50.2, 49.8, 48.8, 48.6, 47.9, 46.9, 44.0, 42.4, 40.5, 38.6, 38.0, 37.3, 37.0, 34.3, 32.0, 30.1, 29.5, 27.7, 26.8, 22.6, 20.8, 18.2, 15.7, 15.2, 14.4; 수율 76%.

Table I - Cytotoxic activities of lupane derivatives (1~15)



Compds.	R ₁	R ₂	R ₃	M2*	A-549	B16-F10	IR***
1	=	▶ OH	CH ₃	>30**	>30**	>30**	+++
2	=	=O	CH ₃	>30	>30	>30	+
3	=	=NOH	CH ₃	>30	>30	>30	-
4	=	▶ OH	CH ₂ OH	>30	>30	>30	-
7	=	=O	CH ₂ OH	22.9	7.22	5.55	-
8	=	=NOH	CH ₂ OH	12.7	4.66	2.83	-
10	=	▶ OH	COOH	7.62	7.70	4.98	-
12	=	=O	COOH	1.89	6.18	2.01	-
14	=	=NOH	COOH	4.59	1.17	6.43	-
11	-	▶ OH	COOH	3.93	3.38	1.48	-
13	-	=O	COOH	10.5	>30	>30	-
15	-	=NOH	COOH	3.35	4.40	9.4	-

*M2: SK-MEL-2

ED₅₀ (µg/mL); *IR: Inhibition ratio of the tube formation of HUVE cells: ++++ = >80%, +++ = 8~60%, ++ = 60~40%, +=40~20%, - = <20%

세포독성 및 HUVEC세포를 이용한 튜브형성억제 실험

세포독성은 SRB방법을 이용하여 측정하였다.¹⁰⁾ 대조군에 대해 세포의 성장을 50% 저지시킨 농도인 ED₅₀ 값은 세번의 독립된 실험으로부터 최소자승법을 이용하여 평균값을 구하였다. HUVE세포를 이용한 튜브모양 억제실험은 Schnaper등¹¹⁾의 방법을 기초로 약간을 변형하여 실험하였으며, 자세한 방법은 이전의 발표논문¹²⁾에 기술되어 있다. 튜브형성억제율 (IR, %)는 다음의 식에 의해 계산되어졌다:

$$\text{억제율 (IR)} = \frac{LC-LS}{LC} \times 100(\%)$$

여기서, LC는 대조군의 튜브형성 길이이며, LS는 시료 처리군의 튜브형성 길이이다.

실험결과 및 고찰

합성

루테올의 유도체의 경우 (C28, methyl), 3번의 hydroxyl기는 Jones 시약에 의해 쉽게 산화되어 oxo 형태의 물질을 얻었고, 이 물질을 hydroxylamine과 반응시켜 3번에 hydroxyimino기가 도입된 물질을 합성하였다. Betulinic acid는 betulin을 Jones' 시약으로 산화하여 얻은 oxo 유도체를 NaBH₄를 이용하여 환원하여 합성하였다. 한편 betulin 유도체의 경우, 3번과 28번에 두개의

hydroxy기를 가지고 있으므로 먼저 28번을 DHP로 protection한 후 역시 Jones' 시약으로 3번을 산화한후 28번의 hydroxy 기를 deprotection하고 lupeol 및 betulinic acid와 같은 방법으로 hydroxyimino 유도체를 합성하였다.

생리활성

각 그룹별로 세포독성의 세기를 비교해 보면, betulinic acid 유도체 (10, 12, 14)>dihydrobetulinic acid 유도체 (11, 13, 15) > betulin 유도체 (4, 7, 8)>lupeol 유도체 (1, 2, 3)의 순서로 나타났다. Lupeol 유도체 (1, 2, 3)의 경우 세 물질 모두 시험한 세 가지 암세포 (SK-MEL-2, A-549, B16-F10)에 대해 세포독성을 나타내지 않았다. Betulin 유도체 (4, 7, 8)의 경우 3β-hydroxy기를 가진 betulin 자체는 세 가지 암세포에 모두에 대해 세포독성을 보이지 않는 반면 oxo와 hydroxyimino기를 가진 유도체들은 A-549와 B16-F10세포에 대해 비교적 좋은 세포독성 (ED₅₀, 2.8~7.2 µg/mL)을 나타냈다. 한편, betulinic acid 유도체 (10, 12, 14)는 3β-hydroxy, 3-oxo, 3-hydroxyimino 기를 가진 모든 물질이 세 가지 암세포주에 대해 비교적 강한 세포독성 (ED₅₀, 1.2~7.8 µg/mL)을 나타냈다. 또한 R1의 이중결합을 환원시킨 dihydrobetulinic acid 유도체 (11, 13, 15)는 3-oxo 기를 가진 13은 SK-MEL-2에 대하여 약한 세포독성을 보일 뿐 다른 세포에 대하여는 작용이 없는 반면, 11 및 15는 비교적 강한 세포독성 (ED₅₀, 1.5~9.4 µg/mL)을 나타냈다. 구조와 세포독성과

의 관계를 보면, lupane의 28번 탄소에 OH, COOH등 기능기가 결합되어 있는 것이 세포독성을 나타내는 데에 중요함을 알 수 있다. 두 기능기 중에서도 유기산기가 알코올기보다 더 유효함을 볼 수 있다. 또한 betulinic acid (BA)와 dihydrobetulinic acid (11)가 세포독성의 뚜렷한 차이가 보이지 않는 것으로 보아 20번 탄소의 이중결합의 존재가 세포독성에 필수적인 것이 아님을 알 수 있다. 이러한 결과에서 Kim 등⁸⁾ 및 Pisha 등⁵⁾의 실험결과와 다르게 이 물질들의 SK-MEL-2세포에 대한 선택성은 관찰할 수 없었다. 한편, lupeol을 제외한 모든 물질들이 HUVEC세포의 튜브형성의 저해효과는 나타나지 않았다.

감사의 말씀

본 연구는 한국학술진흥재단의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문 헌

- 1) Kashiwada, Y., Hashimoto, F., Cosentino, L. M., Chen, C. H., Garrett, P. E., Lee, K. H. : Betulinic acid and dihydrobetulinic acid derivatives as potent anti-HIV agents. *J. Med. Chem.* **39**, 1016 (1996).
- 2) Fujioka, T., Kashiwada, Y., Kilkuskie, R. E., Cosentino, L. M., Ballas, L. M., Jiang, J. B., Janzen, W. P., Chen, I. S., Lee, K.H. : Anti-AIDS agents, 11. Betulinic acid and platanic acid as anti-HIV principles from *Syzygium claviflorum*, and the anti-HIV activity of structurally related triterpenoids. *J. Nat. Prod.* **57**, 243 (1994).
- 3) Inoue, H., Saito, H., Koshihara, Y., Murota, S. : Inhibitory effect of glycyrrhetic acid derivatives on lipoxygenase and prostaglandin synthetase. *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 897 (1986).
- 4) Jeong, H. J., Chai, H. B., Park, S. Y., Kim, D. S. : Preparation of amino acid conjugates of betulinic acid with activity against human melanoma. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **9**, 1201 (1999).
- 5) Pisha, E., Chai, H. B., Lee, I. S., Chagwedera, T. E., Farnsworth, N. R., Cordell, G. A., Beecher, C. W., Fong, H. H., Kinghorn, A. D., Brown, D. M. : Discovery of betulinic acid as a selective inhibitor of human melanoma that functions by induction of apoptosis. *Nat. Med.* **1**, 1046 (1995).
- 6) Schmidt, M. L., Kuzmanoff, K. L., Ling-Indeck, L., Pezzuto, J. M. : Betulinic acid induces apoptosis in human neuroblastoma cell lines. *Eur. J. Cancer.*, **33**, 2007 (1997).
- 7) You, Y. J., Nam, N. H., Kim, Y., Bae, K. H., Ahn, B. Z. : Antiangiogenic Activity of Lupeol from *Bombax ceiba*. *Phytother. Res.*, in press.
- 8) Kim, D. S., Pezzuto J. M., Pisha, E. : Synthesis of betulinic acid derivatives with activity against human melanoma. *Bioorg Med Chem Lett.*, **8**, 1707 (1998).
- 9) Evers, M., Poujade, C., Soler, F., Ribeill, Y., James, C., Lelievre, Y., Gueguen, J. C., Reisdorf, D., Morize, I., Pauwels, R., De Clercq, E., Henin, Y., Bousseau, A., Mayaux, J. F., Le Pecq, J. B., Dereu, N. : Betulinic Acid Derivatives: A New Class of Human Immunodeficiency Virus Type 1 Specific Inhibitors with a New Mode of Action. *J. Med. Chem.* **39**, 1056 (1996).
- 10) Skehan, P., Storeng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D., Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S., Boyd, M. R. : New colorimetric cytotoxicity assay for anticancer-drug screening. *J. Natl. Cancer Inst.* **82**, 1107 (1990).
- 11) Schnaper, H. W., Grant, D. S., Stetler-Stevenson, W. G., Fridman, R., D'orazi, G., Murphy, A. N., Bird, R. E., Hoythya, M., Fuerst, T. R., French, D., Qigley, J. P., Kleiman, H. K. : Type IV collagenase(s) and TIMPs modulate endothelial cell morphogenesis *in vitro*. *J. Cell. Physiol.* **156**, 235 (1993).
- 12) Bae, K. H., You, Y. J., Park, J. Y., An, R. B., Kim, Y. H., Kang, J. S., Ahn, B. Z. : Screening of angiogenesis inhibitors from Korean plants (I). *Kor. J. Pharmacogn.* **31**, 320 (2000).
- 13) Kim, D. S., Chen, Z., Nguyen, V. T., Pezzuto, J. M., Qiu, S., Lu, Z. Z. : A concise semi-synthetic approach to betulinic acid from betulin. *Synth. Commun.* **27**, 1607 (1997).