

루판 유도체의 합성 및 세포독성 -II: 아미노아세틸 유도체

유영제 · 김 용 · 뉘엥남하이 · 안병준[#]

충남대학교 약학대학

(Received July 28, 2002; Revised October 7, 2002)

Synthesis and Cytotoxic Activity-II, Aminoacetyl Derivatives

Young-Jae You, Yong Kim, Nguyen-Hai Nam and Byung-Zun Ahn[#]

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

Abstract — To increase the water solubility, sixteen lupane derivatives bearing aminoacetyl moiety at C3 were synthesized. Their cytotoxic activities against three cancer cell lines, SK-MEL-2, A549, and B16, were tested. Among them, six derivatives showed significant cytotoxic activity.

Keywords □ Lupane, betulinic acid, cytotoxic activity, hydrophilicity

Lupane계의 물질은 식물자원에서 흔히 발견되는 물질군이며 이들은 다양한 생리활성을 나타낸다. 이 물질군의 대표적인 물질 중의 하나인 betulinic acid는 anti-HIV,^{1,2)} anti-inflammatory³⁾ 등의 효과를 나타낸다. 최근에는 인체 피부암세포에 선택적인 세포독성을 나타냈고, 동물모델에서 우수한 항암활성을 나타내 많은 관심을 모으고 있다.^{4,8)} 지금까지의 연구에 의하면 이 물질의 항암활성은 암세포의 apoptosis를 유발함으로써 나타난다고 알려져 있다.^{8,9)} 그러나 이 물질은 세포독성의 세기가 비교적 약하고 물에 잘 녹지 않아 동물실험에서 과량을 투여해야하고 투여 시에 용해도의 문제를 겪게 된다. 한편, 본 실험실에서는 1,4-dihydroxy-9,10-anthraquinone 유도체에 aminoacetyl 기를 도입한 결과 수용성의 증가와 함께 세포독성의 증가효과를 관찰하였다.¹¹⁾ 따라서 본 실험에서는 이러한 질소원자를 포함하는 aminoacetyl 기의 도입에 의한 효과를 기대하여 aminoacetyl 기를 갖는 lupane 유도체를 합성하고 세포독성을 측정하였다.

실험재료 및 방법

실험재료

각종 시약은 주로 시그마-알드리치사에서 구입하였고, 용매는

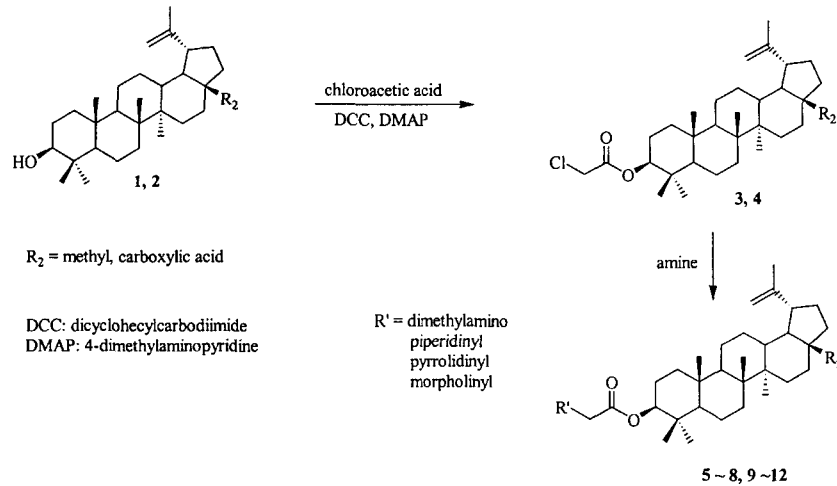
특급 또는 필요에 따라 정제하여 사용하였다. 실험에 사용된 SK-MEL-2(human melanoma), A549(human lung carcinoma), B16-F10(murine melanoma) 세포는 한국생명공학연구원에서 분양 받았으며, 세포배양시 사용된 RPMI1640, fetal bovine serum 및 다른 시약은 Gibco사로부터 구입하였다. IR 스펙트라는 Perkin-Elmer 780 분광광도계로 측정하였으며 cm-1로 표시하였다. 핵자기공명 스펙트라는 JEOL(90 MHz) 분광광도계를 이용하여 tetramethylsilane(TMS)을 내부표준물질로 하여 측정하였으며, 화학적 이동(chemical shift)은 δ 단위로 coupling constant는 Hz로 나타내었다. TLC에서는 silica gel plate(Merk, 60F₂₅₄)을 사용하였고, column chromatography는 silica gel(Merk, 70~230 mesh)를 사용하였다.

Aminoacetyl 기가 포함된 lupeol 및 betulinic acid 유도체의 합성

Chloroacetic acid와 1,3-dicyclohexylcarbodiimide, 4-dimethylaminopyridine를 이용하여 ester 화하고, 얻어진 에스터를 과량(5~10 당량)의 아민과 반응시켜 목적하는 화학식 4의 물질을 얻었다.

3 β -(Chloroacetyloxy)-lup-20(29)-ene(3)의 합성 — 무수 dichloromethane 10 mL에 녹아 있는 3 β -hydroxy-lup-20(29)-ene(1) 85 mg(0.2 mmol)에 chloroacetic acid 22.56 mg(0.24 mmol), 4-dimethylaminopyridine 5 mg(0.04 mmol)와 1,3-dicyclohexy-

[#]본 고문에 관한 문의는 저자에게로
(전화) 042-821-5923 (팩스) 042-823-6566
(E-mail) ahnbj@cnu.ac.kr



Scheme 1 – Synthetic pathway of aminoacetyl derivatives of lupeol and betulinic acid.

lcarbodiimide 45 mg(0.24 mmol)를 0°C에서 가한 후 5 시간 동안 교반한다. hexane 10 mL를 가한 후 여과한다. 여액에 dichloromethane 30 mL를 가한 후 물로 3회 세척한다. dichloromethane층을 무수망초로 탈수 한 후, 감압농축하여 생성되는 조생성물을 silica gel column에서 hexane : ethyl acetate (6:1)의 혼합용매로 분리하여 백색의 고체 72 mg(85%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.70, 4.58(2H, 2×br s; H_2 -29), 4.30~4.70(1H, m; H-3), 4.04(2H, s; OCOCH_2).

3 β -(Chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(4)의 합성 – 3 β -hydroxy-lup-20(29)-en-28-oic acid(2) 137 mg(0.3 mmol)을 사용하여 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-ene(3)의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 138 mg(87%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.71, 4.60(2H, 2×br s; H_2 -29), 4.40~4.60(1H, m; H-3), 4.04(2H, s; OCOCH_2).

3 β -(Dimethylaminoacetyloxy)-lup-20(29)-ene(5)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-ene(3) 100 mg(0.20 mmol)을 무수 tetrahydrofuran 5 mL에 녹인 후 dimethylamine 45 mg(1.0 mmol)을 가한 후 1 시간 동안 환류시킨다. 반응 혼합물에 ethyl acetate 20 mL를 가하여 희석한 후 물 20 mL와 포화 식염수로 세척한 후, 무수망초로 건조한 다음 감압농축하여 얻어진 잔사를 column chromatography에 hexane : ethyl acetate (3:1)로 정제하여 백색의 고체 87 mg(85%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.67, 4.57(2H, 2×br s; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.16(2H, s; OCOCH_2), 2.36(6H, s; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

3 β -(Pyrrolidinylacetyloxy)-lup-20(29)-ene(6)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-ene (3) 100 mg(0.20 mmol)과 pyrrolidine 71 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 98 mg(90%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90

MHz, CDCl_3): δ 4.66, 4.57(2H, 2×br s; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.38(2H, s; OCOCH_2), 2.65(4H, t, $J = 5.4$ Hz; $\text{N}(\text{CH}_2\text{C})_2$).

3 β -(Piperidinylacetyloxy)-lup-20(29)-ene(7)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-ene(3) 100 mg(0.20 mmol)과 piperidine 85 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성 방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 88 mg(80%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.63, 4.52(2H, 2×br s; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.22(2H, s; OCOCH_2), 2.50(4H, t, $J=5.4$ Hz; $\text{N}(\text{CH}_2\text{C})_2$).

3 β -(Morpholinylacetyloxy)-lup-20(29)-ene(8)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-ene (3) 100 mg(0.20 mmol)과 morpholine 87 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성 방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 83 mg(75%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.68, 4.57(2H, 2×br s; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.21(2H, s; OCOCH_2), 2.60(4H, t, $J = 5.4$ Hz; $\text{N}(\text{CH}_2\text{C})_2$), 3.76(4H, t, $J = 5.4$ Hz; $(\text{OCH}_2\text{C})_2$).

3 β -(Dimethylaminoacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(9)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(4) 106 mg(0.20 mmol)과 demethylamine 29 mg(1.0 mmol)을 사용하여 LN1의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 103 mg(95%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.66, 4.53(2H, 2×br s; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.26(2H, s; OCOCH_2), 2.33(6H, s; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$).

3 β -(Pyrrolidinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(10)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(4) 106 mg(0.20 mmol)과 pyrrolidine 71 mg(1.0 mmol)을 사용하여 LN1의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 102 mg(90%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.66, 4.52(2H, 2×br

s; H₂-29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.17(2H, s; OCOCH₂), 2.55(4H, t, J = 5.4 Hz; N(CH₂C)₂).

3β-(Piperidinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(11)의 합성 - 3β-(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(4) 106 mg(0.20 mmol)과 piperidine 85 mg(1.0 mmol)을 사용하여 LN1의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 99 mg(85%)을 얻었다. ¹H-NMR(90 MHz, CDCl₃): δ 4.68, 4.54(2H, 2×br s; H₂-29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.36(2H, s; OCOCH₂), 2.71(4H, t, J = 4.9 Hz; N(CH₂C)₂).

3β-(Morpholinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(12)의 합성 - 3β-(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oic acid(4) 106 mg(0.20 mmol)과 morpholine 87 mg(1.0 mmol)을 사용하여 LN1의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 93 mg(80%)을 얻었다. ¹H-NMR(90 MHz, CDCl₃): δ 4.67, 4.53(2H, 2×br s; H₂-29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.16(2H, s; OCOCH₂), 2.59(4H, t, J=4.4 Hz; N(CH₂C)₂), 3.71(4H, t, J=4.5 Hz; (OCH₂C)₂).

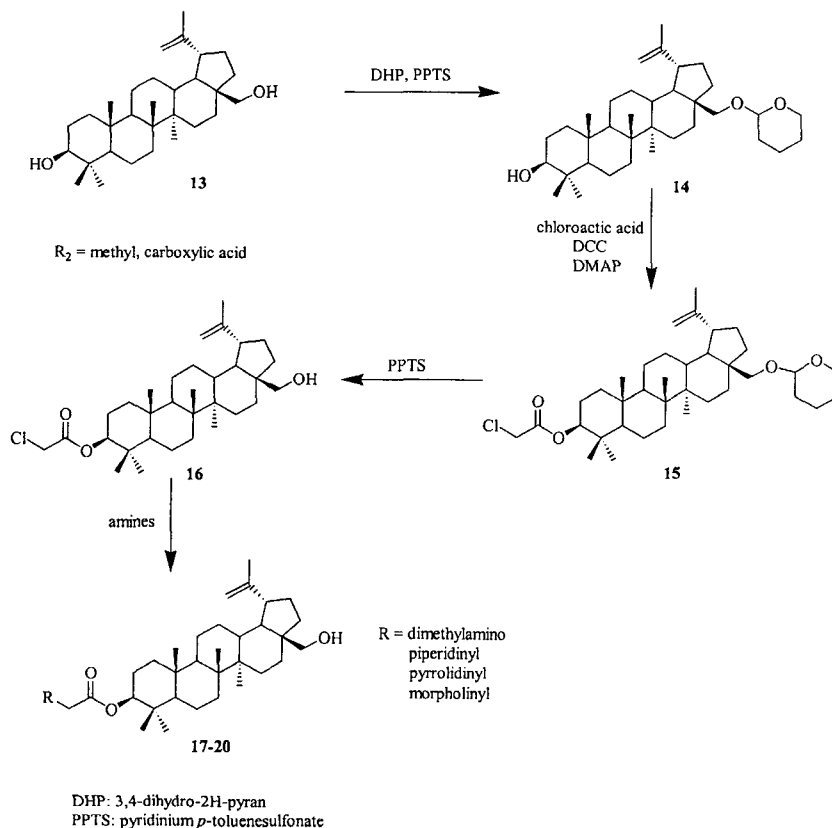
4-aminoacetyl 기가 포함된 betulin 유도체

3β-Hydroxy-lup-20(29)-en-28-oyl tetrahydropyranyl ether(14)의 합성 - 3β-hydroxy-lup-20(29)-en-28-ol (13) 450 mg(1.0

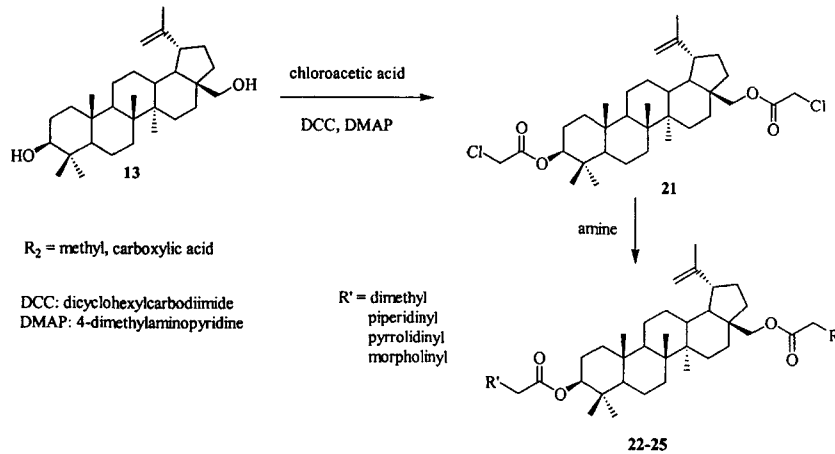
mmol)의 dichloromethane 15 mL용액에 3,4-dihydro-2H-pyran 95 mg(1.12 mmol)과 pyridinium p-toluenesulfonate 30 mg(0.12 mmol)을 넣고 질소가스 하에서 상온에서 72시간 동안 교반하였다. TLC로 반응을 확인 후 5 mL의 포화 sodium bicarbonate를 서서히 가한 후 dichloromethane 40 mL를 더 가했다. 물 50 mL로 3회 세척 후, 무수망초로 탈수, 감압농축하여 조생성물을 얻었다. 이것을 silica gel column에서 hexane : ethyl acetate(4:1)의 혼합용매로 정제하여 diastereomeric mixture로서 백색의 고체 489 mg(93%)을 얻었고 이를 더 이상의 분리과정 없이 바로 다음 반응에 이용하였다.

3β-(Chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oyl tetrahydropyranyl ether(15)의 합성 - diastereomeric mixture상태의 3β-hydroxy-lup-20(29)-en-28-oyl tetrahydropyranyl ether(14) 526 mg(1.0 mmol)을 이용하여 3의 합성방법과 동일한 방법으로 diastereomeric mixture로서 백색의 고체 536 mg(89%)을 얻었다.

3β-(Chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(16)의 합성 - Diastereomeric mixture인 3β-(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-oyl tetrahydropyranyl ether(15) 602 mg(1.0 mmol)을 methanol 10 mL에 녹이고, 이 용액에 pyridinium p-



Scheme 2 - Synthetic pathway of aminoacetyl derivatives of betulin.



Scheme 3 – Synthetic pathway of diaminoacetyl derivatives of betulin.

toluenesulfonate 23 mg(0.09 mmol)을 가한 후 상온에서 36시간 동안 교반하였다. 반응종결 후 5 mL의 포화 sodium bicarbonate를 서서히 가한 후 50 mL의 ethyl acetate로 추출한 후, 물 50 mL로 3회 세척, 무수망초로 탈수, 감압농축하여 조생성물을 얻었다. 이것을 column chromatography에 hexane : ethyl acetate(4:1)로 정제하여 백색의 고체 482 mg(93%)를 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.71, 4.60(2H, $2 \times \text{br s}$; H_2 -29), 4.40~4.60(1H, m; H-3), 4.04(2H, s; OCOCH_2), 3.79, 3.30(2H, $2 \times \text{d}$, $J=10.7$ Hz; H_2 -28).

3 β -(Dimethylaminoacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(17)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(16) 104 mg(0.20 mmol)과 demethylamine 29 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 95 mg(90%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.66, 4.57(2H, $2 \times \text{br s}$; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m), 3.16(2H, s; OCOCH_2), 2.35(6H, s; $\text{N}(\text{CH}_3)_2$), 3.79, 3.30(2H, $2 \times \text{d}$, $J=10.7$ Hz; H_2 -28).

3 β -(Pyrrolidinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(18)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(16) 104 mg(0.20 mmol)과 pyrrolidine 71 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 100 mg(90%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.66, 4.57(2H, $2 \times \text{br s}$; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.33(2H, s; OCOCH_2), 2.65(4H, t, $J=5.4$ Hz; $\text{N}(\text{CH}_2\text{C})_2$), 3.79, 3.30(2H, $2 \times \text{d}$, $J=10.7$ Hz; H_2 -28).

3 β -(Piperidinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(19)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(16) 104 mg(0.20 mmol)과 piperidine 85 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 85 mg(75%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.65, 4.56(2H, $2 \times \text{br s}$; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.16(2H, s; OCOCH_2), 2.50(4H, t, $J=4.8$ Hz;

$\text{N}(\text{CH}_2\text{C})_2$), 3.78, 3.32(2H, $2 \times \text{d}$, $J=10.7$ Hz; H_2 -28).

3 β -(Morpholinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(20)의 합성 – 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-ol(16) 104 mg(0.20 mmol)과 morpholine 87 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 무색의 유상 물질 102 mg(90%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.67, 4.58(2H, $2 \times \text{br s}$; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.20(2H, s; OCOCH_2), 2.58(4H, t, $J=4.4$ Hz; $\text{N}(\text{CH}_2\text{C})_2$), 3.75(4H, t, $J=4.4$ Hz; $(\text{OCH}_2\text{C})_2$), 3.62, 3.30(2H, $2 \times \text{d}$, $J=10.7$ Hz; H_2 -28).

두 개의 aminoacetyl기가 포함된 betulin 유도체

Chloroacetic acid 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(21)의 합성 – Betulin 442 mg(1 mmol)과 2 당량의 chloroacetic acid를 사용하여 3와 동일 방법으로 백색의 고체 522 mg(88%)를 얻었다.

Dimethylaminoacetic acid 3 β -(dimethylaminoacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(22)의 합성 – chloroacetic acid 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(21) 119 mg(0.20 mmol)과 demethylamine 29 mg(2.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 연갈색의 유상 물질 110 mg(90%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.67, 4.58(2H, $2 \times \text{br s}$; H_2 -29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.18, 3.15(4H, $2 \times \text{s}$; $2 \times \text{OCOCH}_2$), 2.35(12H, s; $2 \times \text{N}(\text{CH}_3)_2$), 4.45, 3.88(2H, $2 \times \text{d}$, $J=9.2$ Hz; H_2 -28).

Pyrrolidinylacetic acid 3 β -(pyrrolidinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(23)의 합성 – chloroacetic acid 3 β -(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(21) 119 mg(0.20 mmol)과 pyrrolidine 71 mg(2.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 백색의 고체 200 mg(90%)을 얻었다: $^1\text{H-NMR}$ (90 MHz, CDCl_3): δ 4.66, 4.57(2H, $2 \times \text{br s}$; H_2 -29),

4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.37, 3.36(4H, 2×s; 2×OCOCH₂), 2.56~2.81(8H, m; 2×N(CH₂C)₂), 4.34, 3.88(2H, 2×d, J=10.7 Hz; H₂-28).

Piperidinylacetic acid 3β-(piperidinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(24)의 합성 -chloroacetic acid 3β-(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(21) 119 mg(0.20 mmol)과 piperidine 85 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 무색의 유상 물질 111 mg(80%)을 얻었다: ¹H-NMR(90 MHz, CDCl₃): δ 4.66, 4.57(2H, 2×br s; H₂-29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.19, 3.16(4H, 2×s; 2×OCOCH₂), 2.51(8H, t, J=5.6 Hz; 2×N(CH₂C)₂), 4.34, 3.14(2H, 2×d, J=11.3 Hz; H₂-28).

Morpholinylacetic acid 3β-(morpholinylacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(25)의 합성 -chloroacetic acid 3β-(chloroacetyloxy)-lup-20(29)-en-28-yl ester(21) 119 mg(0.20 mmol)과 morpholine 87 mg(1.0 mmol)을 사용하여 5의 합성방법과 동일한 방법으로 무색의 유상 물질 104 mg(75%)을 얻었다: ¹H-NMR(90 MHz, CDCl₃): δ 4.66, 4.58(2H, 2×br s; H₂-29), 4.50~4.80(1H, m; H-3), 3.22, 3.18(4H, 2×s; 2×OCOCH₂), 2.57(8H, t, J=4.4 Hz; 2×N(CH₂C)₂), 3.74(8H, t, J=

=4.4 Hz; 2×O(CH₂C)₂), 4.36, 4.86(2H, 2×d, J=12.9 Hz; H₂-28).

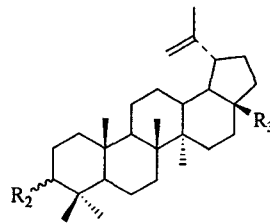
세포독성 실험 - 실험에 사용된 SK-MEL-2, A549 및 B16-F10 세포는 10% fetal bovine serum이 함유된 RPMI 배지를 사용하여 37°C, 5% CO₂ 조건에서 배양하여 실험에 사용하였다. 실험 방법은 Skehan 등11의 방법을 따랐으며, ED₅₀ 값은 음성대조군에 대한 성장 저해율이 50%되는 약물의 농도로 정하였다.

실험결과 및 고찰

합성

Lupeol (1)과 betulinic acid (2)는 바로 3번의 hydroxy기를 1,3-dicyclohexylcarbodiimide(DCC), 4-dimethylaminopyridine(DMAP)를 사용하여 쉽게 3과 4를 각각 85%, 87%의 수율로 합성하였다. 그 후 과량의 amine (5~10 당량)과 반응시켜 aminoacetyl기가 포함된 lupeol 및 betulinic acid 유도체 (5~8, 9~12)를 좋은 수율로 합성할 수 있었다 (>75%). 반면, betulinic acid (13)의 3번 치환기에만 aminoacetyl기가 도입된 물질 (17~20)을 합성하기 위해 28번의 hydroxy기를 먼저 3,4-dihydro-2H-pyran(DHP)로 protection한 후 3번의 hydroxy기를 ester 화,

Table 1 - Cytotoxic activities of lupane derivatives (5~25).



Compds.	R ₂	R ₃	SK-MEL-2	A-549	B16
5	dimethylaminoacetyl	methyl	>30*	>30*	> 30*
6	pyrrolidinylacetyl	methyl	>30	>30	> 30
7	piperidinylacetyl	methyl	>30	>30	> 30
8	morpholinylacetyl	methyl	>30	>30	> 30
17	dimethylaminoacetyl	hydroxymethyl	> 30	>30	> 30
18	pyrrolidinylacetyl	hydroxymethyl	> 30	>30	> 30
19	piperidinylacetyl	hydroxymethyl	> 30	>30	> 30
20	morpholinylacetyl	hydroxymethyl	22.2	5.92	> 30
9	dimethylaminoacetyl	carboxyl	>30	>30	> 30
10	pyrrolidinylacetyl	carboxyl	>30	>30	> 30
11	piperidinylacetyl	carboxyl	>30	7.58	>30
12	morpholinylacetyl	carboxyl	13.99	1.96	20.85
22	dimethylaminoacetyl	dimethylaminoacetyloxymethyl	25.13	8.57	10.16
23	pyrrolidinylacetyl	pyrrolidinylacetyloxymethyl	11.40	4.36	11.40
24	piperidinylacetyl	piperidinylacetyloxymethyl	>30	>30	> 30
25	morpholinylacetyl	morpholinylacetyloxymethyl	10.00	5.86	4.15
BA			7.62	7.70	4.98

*ED₅₀ (μg/ml)

deprotection한 후 치환반응시켜 3번에만 aminoacetyl 기가 도입된 물질을 합성하였다. 한편, betulin을 2당량의 chloroacetic acid와 반응시켜 3번과 28번의 hydroxy 기를 모두 ester 화한 **21**를 합성하였고, 이를 역시 과량의 아민과 반응시켜 두 개의 aminoacetyl 기를 갖는 물질 (**22~25**)을 합성하였다.

세포독성

Table I에 세포독성 결과를 나타내었다. Lupeol의 aminoacetyl 유도체 (**5~8**)는 도입된 아민의 종류에 관계없이 활성이 나타나지 않았다. Betulin의 3번에 aminoacetyl 기가 도입된 물질 (**17~20**)도 morpholine이 도입된 **20**을 제외하고는 모두 활성을 나타내지 않았다. **12**의 경우에도 3종의 암세포 중 A549 세포에 대해서만 세포독성 (ED_{50} , 5.92 $\mu\text{g/mL}$)을 나타냈다. Betulinic acid의 aminoacetyl 유도체 (**9~12**)의 경우 **11** 및 **12**의 A549 세포에 대한 세포독성을 제외하면 모두 출발물질인 betulinic acid에 비해 세포독성이 현저히 감소한 것을 볼 수 있다. 이는 3번에 도입된 aminoacetyl 기가 공간적인 장애 요인으로 작용하여 물질과 작용 부위간의 결합을 방해하기 때문일 것으로 생각된다. 한편, betulin의 3번과 28번에 두 개의 aminoacetyl 기를 도입시킨 유도체 (**22~25**) 중 piperidinyl 기가 도입된 **24**을 제외하고는 모두 A549 세포에 대해서는 활성 (ED_{50} , 4.4~8.6 $\mu\text{g/mL}$)을 나타냈다. 이들 중 활성 물질은 주로 폐암세포인 A549에 강한 세포독성을 나타냈다. 이 물질군은 앞의 3번에만 aminoacetyl 기가 도입된 물질들에 비해 28번 위치에 aminoacetyl 기가 하나 더 있는 구조이다. 따라서 앞의 공간적인 효과만을 고려해 보면 이 물질군도 세포독성이 나타나지 않을 것으로 생각되었으나 실험 결과에서 보듯이 세포독성을 나타냈다. 이러한 결과는 앞서 설명한 aminoacetyl 기에 의한 공간적인 효과 외에 두 aminoacetyl 기에 의한 수용성의 증가 등 다른 요인이 관여할 것으로 생각된다.

감사의 말씀

본 연구는 한국한술진흥재단(KRF)의 연구비 지원으로 수행되었으며 이에 감사드립니다.

문헌

1) Kashiwada, Y., Hashimoto, E., 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) Ryu, S. Y., Choi, S. U., Lee, S. H., Lee, C. O., No, Z. S., Ahn, J. W. : Antitumor Triterpenes from Medicinal Plants, *Arch. Pharm. Res.* **17**, 375 (1994).
- 5) Yasukawa, K., Takido, M., Matsumoto, T., Takeuchi, M., Nakagawa, S. : Sterol and triterpene derivatives from plants inhibit the effects of a tumor promoter, and sitosterol and betulinic acid inhibit tumor formation in mouse skin two-stage carcinogenesis. *Oncology* **48**, 72 (1991).
- 6) Yasukawa, K., Yu, S., Yamanouchi, S., Takido, M., Akihisa, T., Tamura, T. : Some lupane-type triterpenes inhibit tumor promotion by 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate in two-stage carcinogenesis in mouse skin. *Phytomedicine* **1**, 309 (1995).
- 7) 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).
- 8) 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**(10), 1046 (1995).
- 9) 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).
- 10) Shin, D. J., You, Y. J., Ahn, B. Z. : 2-(1-Aminoacetyloxyalkyl)-1,4-dihydroxy-9,10-anthraquinone derivatives: synthesis and cytotoxic activity. *J. Pharm. Soc. Korea* **45**, 133 (2001).
- 11) 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).