

Flavopiridol 유도체에 의한 유방암 MCF-7 세포의 저해 활성에 관한 구조와 활성과의 관계

성민규 · 주성모 · 송아름 · 성낙도*

충남대학교 농업생명과학대학, 응용생물화학부

QSAR on the Inhibition Acticity of Flavopiridol Analogues against Breast Cancer MCF-7

Min-Gyu Soung, Sung-Mo Joo, Ah-Reum Song and Nack-Do Sung*

Department of Applied Biology & Chemistry, College of Agriculture and Life Sciences,
Chungnam National University, Daejeon 305-764, Korea

Received July 2, 2007; Accepted July 31, 2007

To search for a molecular design of a new breast cancerous inhibitory active compound, 2D-QSAR and HQSAR between the substituents of flavopiridol analogues as substrates and their breast cancerous inhibitory activities against MCF-7 cell were analyzed and discussed quantitatively. It was found that the dispersion with molecule and steric hindrance with substituents will have a tremendous impact on the inhibitory activities from the 2D-QSAR model (1). Also, MR constant is better than that of MS constant as an important factor. The inhibitory activities from 2D-QSAR model (2) were dependent upon the optimum MR constant (MR = 126 Cm³/mol). Optimized HQSAR model (V) exhibited the best predictability of the inhibitory activities based on the cross-validated r^2_{cv} ($q^2 = 0.583$) and non-cross-validated conventional coefficient ($r^2_{ncv} = 0.982$). From the contribution maps, the inhibitory activity by the imino group on C₉ atom was higher than that of the hydroxyl group of C₈ atom on the A ring in molecule. Therefore, we can confirm that the dispersion by substituents in molecule is the most important factor in inhibitory activities against MCF-7 cell.

Key words: Breast cancer MCF-7 cell, Flavopiridol analogues, Induction of cell MCF-7, Optimized 2D-QSAR & HQSAR model

서 론

면역기능이 약화되어 세포들의 분열증식과 분화를 조절하는 세포주기가 능력을 상실했을 경우에 나타나는 질병이 바로 암이다.¹⁾ 포유동물 세포의 정상적인 세포주기의 진행은 크게 G₁ 및 G₂기에 존재하는 제한점(restriction point)에 의해 결정되며 이 제한점의 비정상적인 진행이 세포노화나 암 등의 질병발생과 연결되어있다. 이런 제한점에서 중요한 역할을 하는 것이 cyclin들이며 세포 주기는 multiple CDK(Cyclin-Dependent Kinase)에 의하여 조절된다. CDK의 활동은 cyclin과 같은 양성적으로 작용하는 효과물질과 결합함으로써 상승적으로 조절되고,^{2,3)} 음성적으로 작용하는 CDK 저해제와 결합함으로써 저해된다.⁴⁾ CDK의 활동은 인산화와 탈인산화 작용으로 각각 상승적 또는 억제적으로 조절될 수 있다.^{5,6)} 또한, 정상 세포를 비

롯한 종양 세포에서 CDK 저해제와 Ki-67은 반비례적으로 발현한다는 보고도 있으나⁷⁾ 유독 유방암에서는 세포 주기를 주관하는 두 표지자가 서로 정비례로 발현된다는 보고도 있었다.^{8,9)}

최근, CDK의 억제제 특정한 암의 세포증식 확산을 통제한다는 것이 널리 알려지면서 암에 대한 화학요법의 새로운 치료 표적으로 많은 CDK 저해물질들이 등록되고 있다.¹⁰⁾ Flavonoid인 flavopiridol은 다수의 CDK를 억제함으로써, 세포를 휴지기 및 분열기 모두에서 정지시킬 수 있는 것으로 알려졌다.¹¹⁾ 특히, Flavopiridol은 CDK 저해제로서 최초로 임상실험에 들어간 약물이다. 근래의 연구에 의하면 Flavopiridol은 *in vivo*와 *in vitro*의 환경에서 다양한 인간 암세포의 세포성장을 저해하여 암 세포 자살 유도작용(apoptosis)을 일으키며¹¹⁾ nanomolar의 적은 농도로 포유류의 cell line 분열을 저해하고 비 선택적이기 때문에 유선암 세포를 비롯한 여타 암세포에도 효과적으로 저해 활성을 나타낸다.¹⁰⁾ 지금까지 많은 수의 물질들이 세포분열 주기의 특정한 단계에서 세포분열을 정지시킨다는 것이 알려졌다. 에스트로겐 의존형 유방암 세포인 MCF-7 세포^{12,13)} 경우에는 이소플라본이 estradiol과 함께 존재시에 estradiol이 에스트

*Corresponding author
Phone: +82-42-821-6737; Fax: +82-32-825-3306
E-mail: ndsung15@hanmail.net

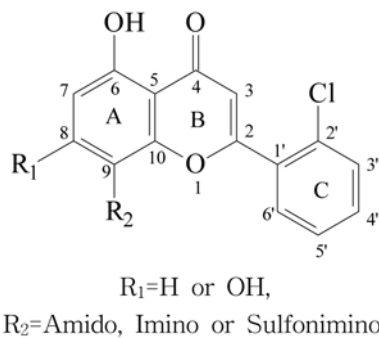


Fig. 1. General structure of flavopiridol analogues as Breast cancer MCF-7 cell inhibitor.

로젠 수용체에 결합하는 것을 방해하여 유방암 세포의 유전자 발현을 방해한다는 것과 genistein이 체내의 농도에서 에스트로젠 수용체와의 결합을 직접적으로 방해하고 항 에스트로젠 역할을 담당한다는 것이 확인되었다.¹⁴⁾ 그리고 유방암의 85%는 유선에서 발생하는 일종의 선암종이며 이러한 유선암 세포를 MCF-7이라 한다.

본 연구에서는 Flavopiridol이 CDK 저해제로서 암세포의 활성을 억제한다는 사실에 근거하여¹¹⁾ 이들의 구조 변화에 따르는 유선암 세포 저해제를 탐색하기 위하여 ligand based approach에 따른 flavopiridol 유도체(Fig. 1)들의 구조적 정보와 MCF-7에 대한 저해활성(pl_{50}) 사이의 2D-QSAR(2 dimensional quantitative structure-activity relationship)^{15,16)} 및 분자 홀로그래픽(H) QSAR^{17,18)} 모델을 유도하고 정량적으로 검토하였다.

재료 및 방법

설명인자 들의 계산. 기질 분자로서 Flavopiridol(Fig. 1) 유도체들의 치환기(R_1 및 R_2) 변화에 따른 유방암 MCF-7 세포에 대한 저해 활성값은 문헌값들을 활용하였으며¹⁰⁾ 설명인자인 물리-화학적 파라미터는 TSAR 프로그램(Ver. 3.3)¹⁹⁾과 Sybyl 프로그램(Ver. 7.3)²⁰⁾을 이용하여 각각 계산하였다. 기질분자의 설명인자인 물리-화학적 파라미터는 분자의 질량(MS), 소수성 상수, $\log P(\pi_x = \log P_x - \log P_H)$ 와 전자 반응지표로서 쌍극자 능률값(Debye) 등을 사용하였다.²¹⁾ 또한, 분자나 치환기 전체의 형태나 크기와 관련된 STERIMOL 파라미터인 L(길이), B_1 - B_4 (폭) 상수 및 몰라 굴절성 상수(MR: Cm^3/mol)값을 구하여 2D-QSAR 모델의 유도에 활용하였다.

2D-QSAR식의 유도. 기질 유도체의 치환기 변화에 따르는 분자의 물리-화학적 파라미터와 관찰된 저해 활성값(IC_{50})과의 구조-활성 상관관계(SAR)를 분석하기 위하여 TSAR 프로그램(Ver. 3.3)을 이용하여 다중 회귀분석을 실시하였다. 활성값에 대한 상관성을 탐색하기 위하여 SAS 프로그램(Ver. 9.1)으로 Hansch-Fujita형의²²⁾ 2D-QSAR식을 유도하였다. 상관성이 높은 모델을 유도하기 위하여 설명인자의 조합에 따른 회귀식을 계산하여 저해활성값과 설명인자 사이의 상관성에서 벗어나는 화합물들(outlier)을 모델의 유도대상에서 제외시켰다. 통계값 중, n 은 각 회귀분석에 사용된 화합물의 수이고 r 은 상관 계수, r^2

는 유의성이고, q^2 는 예측성, F 는 상관율이며 그리고 s 는 표준 편차를 나타낸 것이다.

HQSAR 모델의 유도. 분자 모델링과 PLS(partial least square) 분석은 Sybyl(Ver. 7.2) 프로그램(Tripos)를 사용하였다. 상관성이 큰 모델을 유도하기 위하여 상관성에서 벗어나는 화합물을 test set로 설정하였다, 저해활성과 분자조각 크기 사이의 관계를 알아보기 위하여 분자 조각의 수를 2~10 bin 크기로 생성시키고 분자의 홀로그래프²³⁾ 길이(53-257)를 넓게 선택하여 계산을 실행하였다. 이에 따른 분자 홀로그래프 길이의 조건에서 다양한 분자조각 특징²⁴⁾들의 조합에 따른 몇 가지 모델들을 유도하였다. 여기에서는 분자 조각의 크기가 7-10인 경우에 가장 양호한 통계값을 얻을 수 있었으며 그 조건에서 분자 조각의 특징들을 변화시켜 최종적으로 가장 좋은 통계값을 갖는 모델을 탐색하여 최적의 HQSAR 모델로 선택하였다.

PLS의 계산. PLS 계산으로부터²⁵⁾ 적절한 성분의 수와 예측력(q^2)은 leave-one-out(LOO) 교차확인 과정에 의하여 결정된다. 그 다음에 적절한 주성분의 수를 사용하여 교차 확인하지 않고 유도되는 모델에 대하여 최종 PLS 분석을 실행하였다. 각 분자조각 중에 포함된 정보는 기본적으로 H 원자와 키랄성(chirality)이 제외된 채로 atoms, bonds 및 connections들이 홀로그래프를 생성하는데 사용되었다. Training set($n=20$)로부터 유도된 모델들은 test set($n=5$)에 의하여 활성이 예측된다. 따라서 최종 HQSAR 결과는 PLS 분석 결과들에 의하여 색깔로 암호화 된 기여도로 나타내었다. 교차확인 결과로 얻어지는 squared prediction errors의 합인 PRESS(predictive residual sum of squares)값을 계산하여 예측성을 평가하였다.

결과 및 고찰

2D-QSAR 모델. 현재 사용되고 있는 유방암 치료제는 5-FU 및 Zoladex 등의 화학요법제가 대부분이며 이들은 독성이 강하여 투약과정에서 정상 세포까지 손상을 주기 때문에 약물에 의한 면역력을 상실하면서 식욕감퇴 및 구토증상 등을 일으킨다. 그러므로 암 환자들은 암 질환 자체보다 항암제에 의한 약물 부작용인 면역력 결핍으로 사망에 이르게 된다. 이러한 부작용을 개선하기 위하여 Flavopiridol이 CDK 저해제로서 암세포의 활성을 억제한다는 사실에 근거하여 이들의 구조 변화에 따르는 유선암 세포 저해제를 탐색하고자 Flavopiridol 유도체의 MCF-7 세포에 대한 관측된 저해 활성값($Obs.pl_{50}$)과 유도된 2D-QSAR 모델에 의한 예측값($Pred.pl_{50}$) 그리고 이들 두값의 차이값(Dev.)을 Table 1에 각각 정리하였다. 가장 낮은 저해활성을 나타내는 화합물은 **22**($pl_{50} = -1.48$) 그리고 가장 높은 저해활성을 나타내는 화합물은 **1**($pl_{50} = 1.59$)이었으며 R_1 -치환기보다 R_2 -치환기에 따라 저해활성에 미치는 정도가 다른 것을 확인할 수 있었다.

치환기 변화에 따른 MCF-7 세포의 저해 활성과의 관계를 알아보기 위하여 한 예로, 2D-QSAR 모델(1)의 유도에 사용된 기질분자의 설명인자들 사이의 correlation matrix를 Table 2에 정리하였다. 이들의 관계로부터 변수들 간에는 독립적임을 알 수 있으며 기질분자의 관측된 저해 활성값과 설명인자 사이의 2D-

Table 1. Observed inhibitory activities (*Obs.pI₅₀*) of flavopiridol analogues against MCF-7 cell and predicted activities (*Pred.pI₅₀*) by optimized models and their deviations

No.	Substituents		Obs.pI ₅₀	2D-QSAR (I)		HQSAR (V)	
	R ₁	R ₂		Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}	Pred. ^{a)}	Dev. ^{b)}
1 ^{c)}	OH		1.59	1.59	0.00	1.59	0.00
2	H		-0.85	-0.98	0.13	-0.92	0.07
3	H		-0.66	-0.94	0.28	- ^{e)}	- ^{e)}
4	H		-1.18	- ^{d)}	- ^{d)}	-0.98	-0.20
5	H		-1.00	-0.89	-0.11	-0.90	-0.10
6	H		-0.54	- ^{d)}	- ^{d)}	-0.71	0.17
7	OH		-0.93	-1.16	0.23	-1.00	0.07
8	OH		-1.11	-1.12	0.01	-1.03	-0.09
9	OH		-0.99	-1.07	0.08	-0.98	-0.01
10	OH		-1.11	-1.07	-0.04	- ^{e)}	- ^{e)}
11	H		-1.30	-1.17	-0.13	-1.25	-0.05
12	H		-1.23	-1.08	-0.15	-1.34	0.11
13	H		-1.30	-1.16	-0.14	- ^{e)}	- ^{e)}
14	H		-0.74	-0.82	0.08	-0.76	0.02
15	H		-0.65	-0.38	-0.27	-0.63	-0.02
16	H		-0.40	-0.57	0.17	-0.47	0.07
17	H		-0.45	-0.52	0.07	-0.50	0.05
18	H		-0.74	-0.82	0.08	-0.76	0.02
20	H		-0.60	-0.57	-0.03	-0.47	-0.13
22	H		-1.48	-1.28	-0.20	-1.53	0.05
23	H		-1.40	-1.51	0.11	-1.42	0.02
24	H		-1.20	-1.16	-0.04	-1.17	-0.03
25	H		-1.23	-1.07	-0.16	-1.20	-0.03
Art ^{g)} (PRESS ^{g)})				0.120 (0.427)		0.066 (0.142)	

Abbreviation: Boc = tert-butoxycarbonyl, bz = benzyl, ph = phenyl, ^{a)}concentration: μM , ^{b)}difference between observed value and predicted value, ^{c)}flavopiridol, ^{d)}outlier compound of eq. 2 ($n = 4$), ^{e)}test set ($n = 5$), ^{f)}average residual of training set, ^{g)}predictive residual sum of squares of the training set.

QSAR 모델은 식(1)과 같다.

$$\begin{aligned}
 \text{Obs.pI}_{50} = & 22.602MR(\pm 1.471) - 2.405MS + 2.402(S - MS)(\pm 0.158) \\
 & (\pm 0.158) - 22.577(S - MR)(\pm 1.473) - 995.621(\pm 64.431), \\
 & (n = 21, s = 1.937, F = 71.85 \text{ 및 } r = 0.973)
 \end{aligned}
 \quad (1)$$

식(1)은 Flavopiridol 유도체들의 유선암 세포 MCF-7에 대한 저해활성이 분자의 질량(MS)과 몰라굴절성 상수(MR) 및 치환기의 질량(S-MS)과 몰라 굴절성 상수(S-MR)에 각각 의존적임을 나타내고 있다. 따라서 MR상수에 있어서, 분자의 몰라굴절

Table 2. Correlation matrix for variables used to derive 2D-QSAR model (1)

	MS	MR	S-MS ^{a)}	S-MR ^{a)}
MS	1			
MR	0.9421	1		
S-MS	0.9905	0.9613	1	
S-MR	0.9293	0.9983	0.9565	1

성 상수는 증가하는 반면에 치환기의 몰라굴절성 상수는 감소할수록 저해활성이 증가할 것이다. 또한, MS상수에 있어서, 치환기의 질량은 증가하고 분자의 질량은 감소하여야 활성이 증가할 것으로 예상되었다. 그러므로 동종 변수의 계수값 크기의 절대값이 동일하며 그 경향이 유사함을 잘 설명하고 있다. 여기에서 MR상수는 분자의 분극율에 비례하는 온도에 무관한 량 (cm^3/mol)을 가진 파라미터로서 분산력과 관련하여 이면성을 가지고 있다. 즉, 변수의 계수가 음($\text{MR} < 0$)이면 입체장애, 양($\text{MR} > 0$)인 경우에는 분산력으로 저해활성에 영향을 미친다.²⁶⁾ 그러므로 (1)식에 MR변수의 경우에 분자는 분산력으로 그리고 치환기는 입체장애를 미치는 요인으로 작용함을 의미하고 있다. 이같은 사실에 따라서, 분자골격은 축소 지향적으로 변환하여 적절한 분산력을 유지하도록 도모하고 치환기는 커져야 하나 입체장애를 유발하는 요인으로 작용하여 활성을 저해하여서는 않된다는 사실을 시사한다. 또한, (1)식으로부터 MCF-7 세포의 저해활성에 미치는 주 요소는 MS상수보다 MR상수가 저해활성에 크게 기여함을 알 수 있었다.

기질분자의 관측된 저해활성값과 설명인자 사이의 2D-QSAR 모델인 식 (2)은 분자굴절상수 (MR)와 STERIMOL 파라미터인 분자내 치환기의 폭(B_1 및 B_4)에 관한 두 종의 변수로 구성되어 있다. 또한, 변수의 계수값 크기로부터 MR이 B_1 및 B_4 보다 저해활성에 큰 영향을 미치는 MR 상수에 관한 2차식이다.

$$\text{Obs.}pI_{50} = -0.004(\text{MR} - 126.298)^2 - 1.059B_4 - 2.176B_1 + 10.763$$

$$(n = 21, s = 1.733, F = 24.640 \text{ 및 } r = 0.928) \quad (2)$$

그러므로 식 (2)으로부터 Flavopiridol 유도체에 의한 유방암 MCF-7 세포의 저해활성은 MR상수의 적정값, $(\text{MR})_{\text{opt}} = 126 \text{ Cm}^3/\text{mol}$ 을 가지는 치환기를 도입할 경우에 유방암 MCF-7 세포의 저해활성이 가장 높을 것으로 예상되었으며 (2)식의 포물선 관계를 Fig. 2에 나타내었다. 따라서 Flavopiridol 유도체의 치환기들에 의한 분산력($\text{MR} > 0$)이²⁶⁾ 유방암 MCF-7 세포에 대한 저해활성에 크게 관여하는 주 요인임을 확인할 수 있었으며 MR상수의 적정값은 $(\text{MR})_{\text{opt}} = 126 \text{ Cm}^3/\text{mol}$ 일 경우에 저해 활

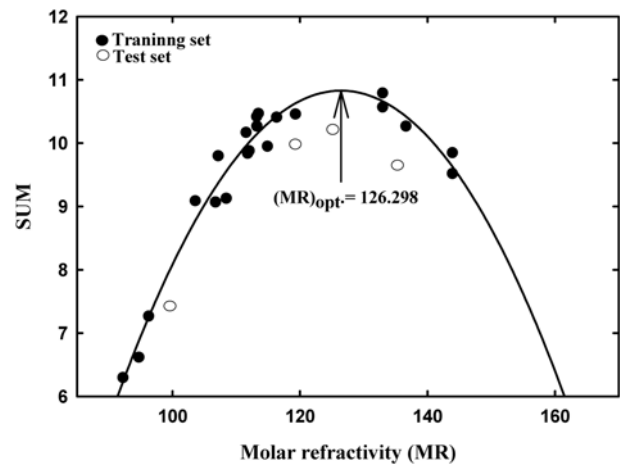


Fig. 2. Relationships between inhibition activities ($\text{Obs.}pI_{50}$) against breast cancer MCF-7 cell and molar refractivity (MR) constants in 2D-QSAR model. $\text{SUM} = pI_{50} + 1.059B_4 + 2.176B_1$ (Eq. 2).

성값이 최대값이 된다는 사실을 잘 설명하고 있다. 그러나 2D-QSAR 모델로서 1차식(1)이 2차식(2)보다 상관성이 크기 ($\Delta r = 0.045$) 때문에 저해활성은 주로 1차식에 의존적일 것이다. 유방암 MCF-7 세포의 저해활성에 대한 관측값($\text{Obs.}pI_{50}$)과 2D-QSAR 모델(1)에 의한 예측값($\text{Pred.}pI_{50}$)과의 관계($\text{Pred.}IC_{50} = 1.000\text{Obs.}pI_{50} - 0.001$, $n = 21$, $s = 0.150$, $F = 348.847$ 및 $r = 0.973$)는 상관성이 양호한 경향이였다.

이상과 같은 검토로부터 Flavopiridol 유도체들의 유방암 MCF-7 세포에 대한 저해활성은 중성 분자간 인력인 분산력 (London forces)이 크게 관여하는 요인임을 확인할 수 있었으며 그 적정값은 $(\text{MR})_{\text{opt}} = 126 \text{ Cm}^3/\text{mol}$ 일 경우에 저해 활성값이 최대가 된다.

HQSAR 모델. HQSAR 모델에 대한 PLS분석 결과들을 Table 3에 정리하였다. 최적의 통계값을 갖는 자료를 얻기 위하여 분자조각의 크기를 3~10으로 변화시켜 계산하였다. 저해 활성이 우수한 분자조각의 크기는 7~10 범위로서 길이는 97 bin으로 분석되었다. 그리고 이 조건에서 HQSAR(V) 모델이 가장 양호한 예측성($q^2 = 0.583$)과 상관계수($r^2 = 0.982$)를 나타내었다. Table 4에서는 최적모델(V)을 바탕으로 분자조각의 특징을 변화시켜 양호한 통계값을 갖는 모델을 탐색하였다. 분자조각의 특징으로서 Atoms/bonds, Connections, Hydrogen(H), Connections-H 및 Chirality가 사용되었다.¹⁷⁾ 특히, Hydrogen 조건에서 최적의 모델($q^2 = 0.583$ 및 $r^2 = 0.982$)을 얻을 수 있었으며 분자 홀로그램의 길이는 97 bin 그리고 주성분 수는 5이

Table 3. HQSAR analyses for the influence of various fragment sizes on the key statistical parameters

Models	Fragment size	Best length	$r_{\text{cv}}^2 (q^2)$	SE_{cv}	r_{ncv}^2	SE_{ncv}	NC
I	3~6	257	0.064	0.064	0.984	0.734	5
II	4~7	53	0.310	0.246	0.983	0.630	5
III	5~8	53	0.090	0.075	0.971	0.724	5
IV	6~9	97	0.420	0.178	0.986	0.578	5
V	7~10 ^{a)}	97	0.583	0.273	0.982	0.490	5

^{a)}The best of fragment size, SE_{cv} : cross-validated standard error, SE_{ncv} : non-cross-validated standard error, NC :number of component.

Table 4. HQSAR analyses for various fragment distinction on the key statistical parameters using *fragment size* default (7~10)

Models	Fragment distinctions	Best length	r^2_{cv} (q^2)	SE _{cv}	r^2_{ncv}	SE _{ncv}	NC
V-1	Atoms/bonds ^{b)}	61	0.286	0.091	0.978	0.644	5
V-2	Connections	61	0.197	0.108	0.983	0.680	5
V ^{a)}	Hydrogen (H)	97	0.583	0.490	0.982	0.100	5
V-3	Connections-H	151	0.270	0.270	0.983	0.648	5
V-4	Chirality	59	0.150	0.973	0.156	0.697	5

^{a)}The optimized HQSAR model, ^{b)}In all case, the atoms and bonds fragment distinction are turned on, SE_{cv}: cross-validated standard error, SE_{ncv}: non-cross-validated standard error, NC: number of component.

Table 5. Predicted values of the test set compounds by optimized HQSAR model

No.	R ₁	R ₂	Obs. pI_{50} ^{a)}	Pred. ^{b)}	Dev. ^{c)}
3	H		-0.66 ^{d)}	-0.94	0.28
10	OH		-1.11 ^{d)}	-0.79	-0.32
13	H		-1.30 ^{d)}	-0.88	-0.42
19	H		-0.85 ^{d)}	-0.63	-0.22
21	H		-1.30 ^{d)}	-0.50	-0.80

Average residual of training set (Arts = 0.41), Predictive residual sum of squares of the training set (PRESS = 1.05), ^{a)}Concentration: μ M, ^{b)}Predicted values by the best model (HQSAR), ^{c)}different between observed value and predicted value.

었다. Table 1에는 MCF-7에 대하여 관측된 저해 활성값 ($Obs.pI_{50}$) 및 HQSAR(V) 모델에 의한 예측값 ($Pred.pI_{50}$) 그리고 두 값의 차이(Dev.)값을 정리하였다. 그리고 Table 5에는 test set 화합물의 편차를 정리하였는데 앞서 언급한 바와 같이 상관성이 큰 모델을 유도하기 위하여 상관성이 벗어나는 화합물을 선정하였으므로 편차가 비교적 큰 경향을 보이고 있다. 최적의 HQSAR 모델(V)로부터 예측된 활성값 ($Pred.pI_{50}$)과 관측된 활성값 ($Obs.pI_{50}$)과의 관계를 Fig. 3에 나타내었다. 비례관계의 직선식으로부터 ($Pred.pI_{50} = 0.984 Obs.pI_{50} - 0.013$, $n = 20$, $s = 0.088$, $F = 101.849$ 및 $r = 0.982$) 두 활성값 사이의 상관성이 높음을 확인할 수 있었다.

HQSAR 기여도. 최적의 HQSAR 모델(V)이 가지고 있는 MCF-7 저해활성에 관한 구조상 특이성을 시각적으로 비교 분석하기 위하여 다루어진 화합물 중에서 저해활성이 가장 큰 화합물(1)과 가장 작은 화합물(22)에 대한 기여도를 Fig. 4에 제시하였다. 기여도에서 활성에 기여하는 부분은 녹색 그리고 기여하지 않는 부분은 붉은색으로 나타내었다.²⁰⁾ 저해활성이 가장 높은 원편 화합물(1)의 구조상 C 고리(C₄)와 R₂-치환기(1-methylpiperidin-3-yl)의 C₅ 및 C₆ 원자 부분이 녹색을 나타내므로 이 부분이 유방암 세포 MCF-7의 저해활성에 기여함을 잘 설명하고 있다. 그리고 C고리의 C₃'와 C₄'에 결합된 수소가 노란색으로 나타나 활성에 약간 기여함을 알 수 있었다. 반면에

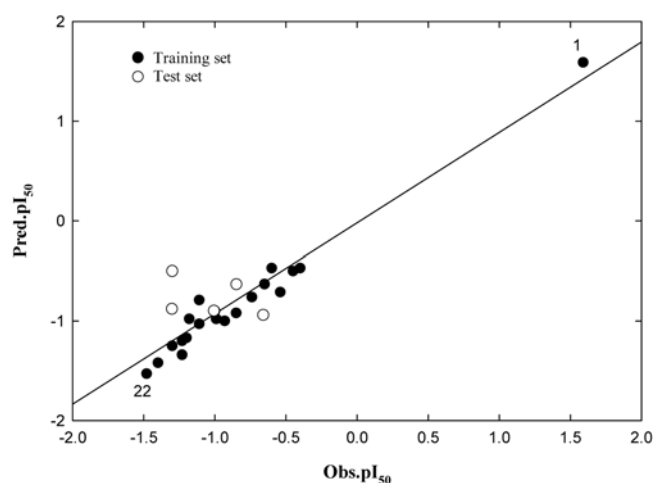


Fig. 3. Relationships between observed inhibition activities ($Obs.pI_{50}$) and predicted inhibition activities ($Pred.pI_{50}$) by optimized HQSAR model (V). (Training set; $Pred.pI_{50} = 0.984 Obs.pI_{50} - 0.013$, $n = 20$, $s = 0.088$, $F = 101.849$, $r^2 = 0.982$ & $q^2 = 0.978$).

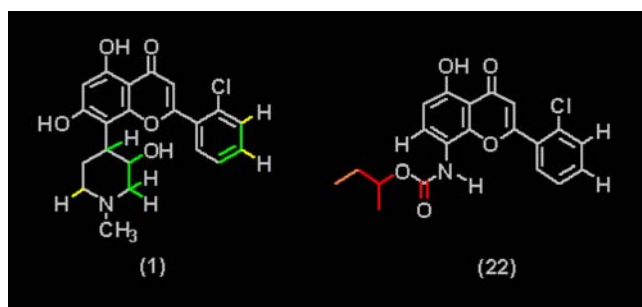


Fig. 4. Atomic contributions to the observed inhibitory activities ($Obs.pI_{50}$) of MCF-7 cell analogues (1, $pI_{50} = 1.59$ & 22, $pI_{50} = -1.48$): Green color denotes the greatest contribution to the inhibition activity while red color signifies least contribution and gray color signifies average contribution.

저해활성이 가장 낮은 오른쪽 화합물(22)의 R₂-치환기(sec-butylmethylcarbamate) 중, C₅-C₇과 C₂ 탄소에 결합된 산소원자는 빨간색을 나타내어 활성에 기여하지 않음을 알 수 있었다. 또한, C₈ 탄소에 결합된 H원자가 주황색을 띠었으며 분자 전체에 녹색의 분포가 없는것으로 보아 이 부분들이 저해활성에 중간 정도로 기여하는것으로 믿어진다. 그러므로 두 화합물의 R₁-치환기 부분은 공통적으로 저해활성에 기여하지 않는것으로 미루어 R₂-치환기의 imino기 부분이 주로 저해활성에 기여하는 것을 알 수 있었다.

다음 연구에서는 flavopiridol 유도체 중에서 유방암 세포 MCF-7에 대하여 저해활성이 가장 큰 화합물(1)의 R₂-치환기 부분에 대한 구조적인 수식을 통하여 기존의 항암제보다 저해활성이 높은 새로운 유방암 치료제를 설계하는데 활용하고자 한다.

초 록

새로운 유방암의 억제 물질을 탐색하고 설계하기 위하여 flavopiridol 유도체의 치환기(R₁~R₂) 변화에 따른 유방암 유발 세포 MCF-7의 저해활성에 관한 2D-QSAR 및 분자 홀로그래피적인 QSAR을 분석하였다. 2D-QSAR 모델(1)로부터 분자는 분산력으로 그리고 치환기는 입체장애를 유발하는 요인으로 작용하였으며 질량(MS)보다 굴절율(MR)상수가 저해활성에 크게 기여하였다. 그리고 2D-QSAR 모델(2)로부터는 MR상수의 적정값. (MR)_{opt.} = 126 Cm³/mol을 가지는 치환기의 저해활성이 가장 높을 것으로 예상되었다. 또한, 최적의 HQSAR 모델은 분자 조각의 크기(7~10) 조건에서 예측성(q² = 0.583)과 상관성(r² = 0.982)이 매우 양호하였으며 기여도로부터 flavopiridol 분자내 A고리의 C₈원자에 결합된 수소원자나 hydroxyl-기보다 C₉원자 부분의 imino 골격이 저해활성에 기여하였다. 결과적으로 치환기들에 의한 분산력이 유방암 유발 세포 MCF-7의 저해활성에 크게 관여하는 주요인이었다.

Key words: Flavopiridol 유도체, 유방암 MCF-7 세포, 유방암 억제물질, MCF-7의 저해활성, 굴절율(MR) 상수, 2D-QSAR 및 HQSAR 모델

감사의 글

본 연구는 한국과학재단(KOSEF) 우수연구센터(ERC) 지원 연구비(No. R11-2005-100-03005)에 의하여 이루어진 것입니다.

참고문헌

- Hunter, T. and Pines, J. (1994) Cyclins and cancer. II Cyclin D and CDK inhibitors come of age. *Cell*, **79**, 573-582.
- Morgan, D. O. (1995) Principles of CDK regulations. *Nat.* **374**, 131-134.
- Sherr, C. J. (1994) G1 phase progression: cyclin on cue. *Cell*, **79**, 551-555.
- Reed, S. I., Bailly, E., Dulic, V., Hengst, L., Resnitzky, D. and Slingerland, J. (1994) G1 control in mammalian cells. *J. Cell. Sci.* **18**(suppl.), 69-73.
- Norbury, C. and Nurse, P. (1992) Animal cell cycles and their control. *Ann. Rev. Biochem.* **61**, 441-470.
- Solomon, M. J. (1993) Activation of the various cyclin/CDC 2 proteins. *Curr. Opin. Cell Biol.* **5**, 180-186.
- Jiang, M., Shao, Z. M., Wu, J., Lu, J. S., Yu, L. M., Yuan, J. D., Han, Q. X., Shen, Z. Z. and Fontana, J. A. (1997) p21^{waf1/cip1} and mdm-2 expression to prognosis. *Int. J. Cancer*, **74**, 529-534.
- Barbareschi, M., Caffo, O., Doglioni, C., Fina, P., Marchetti, A., Buttitta, F., Leek, R., Morelli, L., Leonardi, E., Bevilacqua, G., Dalla, P. P. and Harris, A. L. (1996) p21 WAF1 immunohistochemical expression in breast carcinoma: correlation with clinicopathologic data, a estrogen receptor status, MIB1 expression, p53 genes and protein alterations and relapse-free survival. *Br. J. Cancer* **74**, 208-215.
- Johnson, E. A., Davidson, A. G. and Hostetter, P. B. (1996) The expression of WAF1 in node-negative infiltrating ductal breast carcinoma. *Proc. Am. Assoc. Cancer Res.* **37**, 569.
- Ahn, Y. M., Vogeti, L., Liu, C. J., Santhapuram, H. K. R., White, J. M., Vasandani, V., Mitscher, L. A., Lushington, G. H., Hanson, P. R., Powell, D. R., Himes, R. H., Roby, K. F., Ye, Q. and Georg, G. I. (2007) Design, synthesis, and antiproliferative and CDK2 -cyclin A inhibitory activity of novel flavopiridol analogues. *Bioorg. Med. Chem.* **15**, 702-713.
- Guo, J., Zhou, A. W., Fu, Y. C., Verma, U. N., Tripathy, D., Frenkel, E. P. and Becerra, C. R. (2006) Efficacy of sequential treatment of HCT116 colon cancer monolayers and xenografts with docetaxel, flavopiridol, and 5-fluorouracil. *Act. Phar. Sin.* **27**, 1375-1381.
- Harris, M., Piskorska-Pliszczynska J., Zacharewski T., Romkes M. and Safe S. (1989) Structure-dependent induction of aryl hydrocarbon hydroxylase in human breast cancer cell lines and characterization of the Ah receptor. *Cancer Res.* **49**, 4531-4535.
- Ivy, S. P., Tulpule, A., Fairchild, C. R., Averbuch, S. D., Myers, C. E., Nebert, D. W., Baird, W. M. and Cowan, K. H. (1988) Altered regulation of P-450IA1 expression in a multidrug resistant MCF-7 human breast cancer cell lines. *J. Biol. Chem.* **263**, 19119-19125.
- Chen, W. F., Huang, M. H., Tzang, C. H., Yang, M. and Wong, M. S. (2003) Inhibitory actions of genistein in human breast cancer (MCF-7) cells. *Biochimica et Biophysica Acta, Molecular Basis of Disease*, **1638**, 187-196.
- Kubinyi, H. (1993) In *Hansch Analysis and Relates Approaches*. VCH, Weinheim, Chap. 4.
- Sung, N. D. (2002) Development of new agrochemicals by quantitative structure-activity relationship (QSAR) methodology. II. The linear free energy relationship (LFER) and descriptors. *Korean J. Pestic. Sci.* **6**, 231-243.
- Heritage, H. H. and Zacher, H. (1999) Molecular Hologram QSAR, In *Rational Drug Design: Novel Methodology and Practical Applications*. (Parrill, A. L. and Reddy, M. R. Ed.), ACS Symposium Series 719, American Chemical Society, Washington, D.C., Ch. 4.
- Akamatsu, M. (2002) Current state and perspectives of 3D-QSAR. *Curr. Topics Med. Chem.* **2**, 1381-1394.
- TSAR (Ver. 3.3) (2000) Proprietary Software, Oxford Molecular Ltd.
- Tripos, Sybyl (2006) Molecular Modeling and QSAR software on CD-Rom (Ver. 7.3), Tripos Associates, Inc., Suite 303, St. Louis, MO.
- Tipker, J. and Verloop, A. (1984) In *The chemistry of Excitation at Interfaces*. Washington, DC. p. 279.
- Broka, J. B. and Randie, M. (1996) Application of String Comparison Techniques in QSAR Studies. *J. Com. Chem.* **7**, 176-188.
- Heritage, T. W. and Lowis, D. R. (1999) *Molecular hologram*

- QSAR. In Rational drug design: Novel Methodology and Practical Applications* (ed. Parrill, A. L. and M. R. Reddy), ACS Symposium Series 719, ACS, Washington, DC. Ch. 4.
24. Tong, W., Lewis, D. R., Perkins, R., Chen, Y., Welsh, W. J., Goddette, D. W., Heritage, T. W. and Sheehan, D. M. (1998) Evaluation of quantitative structure activity relationship methods for large-scale prediction of chemicals binding to the estrogen receptor. *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* **38**, 669-677.
25. Mager, P. P. (1998) In *Multivariate Chemometrics in QSAR: A Dialogue*. Letchworth, Hertfordshire, England, Wiley.
26. Dunn, W. J. III. (1977) Molar refractivity as an independent variable in quantitative structure-activity studies. *Eur. J. Med. Chem.* **12**, 109-127.