

저영양 미생물에서 추출된 항암물질의 유도체 합성 및 생리 활성 검증

건국대학교 : 박광수, 이은정, 이선희, 우윤경, 최병혁, 신순영, 이영한, 정유훈*
 농촌진흥청: 윤상홍

**Synthesis and Anticancer Activity of Analogues of a Bioactive Molecule Isolated from
 Microorganism**

Department of Bioscience & Biotechnology, Konkuk University

Kwang-su Park, Eunjung Lee, Sunhee Lee, Yoonkyung Woo Byeong Hyeok Choi,
 Soonyoung Shin, Younghan Lee, Youhoon Chong*

National Institute of Agricultural Biotechnology, Rural Development Administration
 Yoon, Sang-Hong

실험목적 (Objectives)

저영양 미생물의 일종인 4G의 배양액에서 추출되어 항암 활성을 보이는 것으로 확인된 bis-(2-ethylhexyl) phthalate의 유도체를 합성하여 유도체의 구조와 활성간의 상관관계를 연구함으로써 새로운 항암물질을 도출하기 위한 연구를 수행하였다.

p53은 일반적으로 종양 단백질 53(tumor protein 53)으로 알려져 있는 전사인자로서 DNA가 손상되었을 때 활성화 되어 세포주기와 세포사멸을 조절하여 손상 받은 DNA를 가진 세포의 세포증식을 억제하거나 세포의 손상이 심할 경우 세포 자기 사멸(apoptosis)유도하는 대표적인 종양억제 단백질 (tumor suppression protein)이다. 종양 억제 유전자인 p53에 돌연변이가 생기게 되거나 p53의 결손이 발생하게 되면 DNA의 손상이 일어나도 세포 자기 사멸을 유도할 수 없게 되어 비정상 세포도 정상 세포처럼 세포주기의 일련의 과정에 맞추어 증식을 하게 된다. 그러므로 이 p53유전자가 손상이 되거나 돌연변이가 되었을 때 암이 발생하게 되고, 또한 암환자 중 50%에서 p53 돌연변이가 발견될 정도로 우리 인체에서 종양 억제에 중요한 역할을 하고 있는 단백질이 p53이다. 따라서 p53 활성이 없는 세포에서는 돌연변이가 일어나 암세포로 발전할 확률이 매우 높아진다. 그렇기 때문에 현재 사용되고 있는 대부분의 항암제는 세포증식을 조절하는 p53을 표적으로 만들어지고 연구되어지고 있다.

이에 본 발명자들은 p53의 발현 증가 현상이 암 세포의 증식억제 및 세포 자기사멸 유발에 주요한 요인으로 작용하는 것에 착안하여 항암효과가 확인된 bis-(2-ethylhexyl) phthalate의 유도체(디씨클로헥실프탈레이트)를 합성하여 유도체에 의한 p53의 발현증가 효과를 확인하고자 하였다.

주저자 연락처 (Corresponding author) : 정유훈 E-mail : chongy@konkuk.ac.kr Tel : 02-2049-6100

재료 및 방법 (Materials and Methods)

○ 실험재료

실험에 사용된 프탈산무수물, 씨클로헥산올, 파라톨루엔술포산, 톨루엔 등은 모두 Sigma-Aldrich로부터 구입하였다.

○ 실험방법

▶ 디씨클로헥실프탈레이트의 합성

딘-스타크 트랩 (Dean-Stark trap)과 응축기에 연결한 100 mL 둥근 바닥 플라스크에 4.9 g (0.03 mol)의 프탈산 무수물과 6.0 g (0.06 mol)의 씨클로헥산올, 3.3 mg의 파라톨루엔술포산 (p-TsOH, 0.017 mmol)을 20 mL 톨루엔에 섞고 3 시간 동안 환류 가열교반 하였다. 상온으로 냉각시킨 후, 트리에틸아민을 과량 가하고 혼합물을 감압증류하여 휘발성 물질들을 제거한 후 남겨진 잔류물을 실리카겔 관 크로마토그래피법으로 정제하여 디씨클로헥실프탈레이트 2.5 g (7.5 mmol, 25% 수율)를 얻었다.

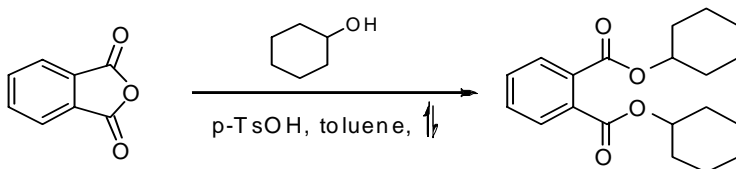
▶ 디씨클로헥실프탈레이트의 항암활성 분석

p53의 발현에 미치는 디씨클로헥실프탈레이트의 영향을 조사하기 위하여 웨스턴 블롯 분석을 하였다. 정상 및 디씨클로헥실프탈레이트가 처리된 배지에서 자란 세포들을 라이시스 버퍼(lysis buffer)로 용해한 후, 고속원심분리로 세포 내 잔사물을 분리시킨 후 동량의 단백질을 에스디에스-폴리아크릴아마이드겔(SDS-polyacrylamidegel)전기영동으로 분리하였다. 블롯들을 일차항체에 반응을 시켜 enhanced chemiluminescence 감지 시스템 (Amersham Pharmacia Biotech, Piscataway, NJ)으로 측정하였다.

실험결과 (Results)

▶ 디씨클로헥실프탈레이트의 합성

산촉매하에서 프탈산무수물과 씨클로헥산올간의 축합반응을 통하여 디씨클로헥실프탈레이트를 25% 수율로 합성하였다.



▶ 디씨클로헥실프탈레이트의 항암활성 분석

아래 그림에 나타난 바와 같이, 디씨클로헥실프탈레이트의 처리에 의하여 p53 유전자의 발현이 시간 의존적으로 4배까지 증가하였음을 알 수 있었으며, 따라서, 디씨클로헥실프탈레이트는 p53의 발현을 증가시키는 활성을 갖는 항암효과 특성을 나타내므로 항암제로서 유용하게 사용될 수 있다.

