

## 시스플라틴과 지방산을 결합한 퓨전 항암제

변홍주 · 이향열<sup>†</sup>

한국교통대학교 생명공학과

(2018년 11월 30일 접수: 2018년 12월 21일 수정: 2018년 12월 21일 채택)

### Fusion anti-cancer drugs of cisplatin analogue and fatty acids for multi-targeted cancer treatment

Hong-Ju Byeon · Hyang-Yeol Lee<sup>†</sup>

Department of Biotechnology, Korea National University of Transportation,  
61 Daehak-ro, Jeungpyeong-gun, Chungbuk 27909

(Received November 30, 2018; Revised December 21, 2018; Accepted December 21, 2018)

**요약** : 시스플라틴은 지난 몇 십년간 가장 많이 사용되고 있는 항암제 중 하나이다. 2가의 시스플라틴의 가장 큰 단점은 암세포 뿐만 아니라 정상세포도 공격하여 부작용을 나타낸다. 본 연구에서는 이러한 단점을 줄이기 위해 목표로 한 타겟을 공격하여 빠른 시간 내에 암세포를 죽일 수 있는 4가의 백금화합물 **3** 과 **4**를 합성하였다. 합성된 Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> **3** and Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4**는 NMR과 질량분석기를 통하여 구조를 확인하였다. 합성된 Pt(IV) 화합물 **3**과 **4**는 위암세포주인 MCF-7을 대상으로 한 MTT assay를 통해 항암효과를 조사하였다. 그 결과 시스플라틴은 39%, Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> **3**와 Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4**는 50 μM 농도에서 각각 54%와 84%의 세포사멸을 보였다.

*주제어* : 시스플라틴, 퓨전항암제, PDK 저해제, 지방산

**Abstract** : Cisplatin has become one of the most widely used anticancer drugs for decades. One of the drawback of cisplatin (II) complex is that it not only targets cancerous cells but also normal cells causing several serious side effects in patients. We have synthesized Pt(IV) complex that are needed to have the ability to kill target cells selectively in a short time before drug resistance develops. By introducing PDK inhibitor, butyric acid and valproic acid, on Pt complex, two fusion anti-cancer agents **3** and **4** have been synthesized and characterized their structures by nmr and mass spectrometer. MTT assay was performed with Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> **3** and Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4** against MCF-7 cell line. As a result, cisplatin, Pt(IV) complexes **3** and **4** were treated, cell viabilities at 50 μM concentration were decreased to 39%, 54% and 84% respectively.

*Keywords* : cisplatin, fusion anti-cancer agent, PDK inhibitor, fatty acid

---

<sup>†</sup>Corresponding author  
(E-mail:

## 1. 서론

시스플라틴은 지난 수 십년 동안 암치료를 위한 임상에서 가장 널리 사용되고 있는 항암제 중의 하나이다[1]. 이러한 백금계 항암제 중 카르보플라틴, 옥살리플라틴 등도 다양한 종류의 암세포를 치유하기 위해 사용되어 오고 있다. 시스플라틴은 DNA와의 공유결합을 이루며 이 백금-DNA 부가물을 제거시키는 리페어 메커니즘이 작동하지 않을 경우 암세포의 자살을 유도하게 된다. 그런데 시스플라틴(II) 복합체의 단점 중 하나는 이것이 암세포를 타겟으로 할 뿐만 아니라 정상세포를 공격함으로써 환자들에게 심각한 부작용을 일으킨다는 것이다. 이런 백금(II) 화합물에 비교했을 때 백금(IV) 화합물은 암세포에 대한 항증식성을 가지고 있으면서 다른 많은 장점들이 있는 것으로 최근 잘 알려져 있다[2~3]. 첫째, 백금(IV) 화합물은 반응성이 적어서 생체조직내에서 불필요한 부반응을 최소화할 수 있다. 둘째, 백금의 축방향에 두개의 리간드를 가지고 있으므로 해서 다양한 변형이 가능해진다. 예로 들면 플루오르신, 플라스미드 DNA나 단백질 등을 운반할 수 있는 탄소나노튜브(SWNTs)를 백금에 붙일 수 있다. 또한 작은 펩타이드계 호르몬인 에스트로젠이나 폴산을 시스플라틴에 도입함으로써 과발현된 종양세포의 리셉터를 스스로 찾아가게 하는 유도장치로써 사용할 수 있다[5~6]. Pt의 축방향에 있는 작용기의 변환에 따른 약물로서의 효과를 살펴보기 위해 여러 종류의 Pt(IV)-카르복실산 유도체들이 합성되었고 그 생리활성이 연구되고 있다[7~8]. Pt(IV)에 배위결합된 리간드로는 가장 간단한 구조를 가진 아세트산에서부터 아릴, 긴사슬 탄화수소계 카르복시산까지 다양한데 특히 아릴, 긴사슬 카르복시산은 약물이 세포벽의 투과도를 높이는 데 효과적인 것으로 알려져 있다. Pt-디아세트산 복합체 중 하나인 Sapraplatin은 말기 전립선암을 치료하기 위한 첫 경구용 항암제로 2001년 임상 III상에 들어갔다. 이 약은 현재 US-FDA에 의해 조사 중에 있다. 최근 유사한 시스플라틴(IV) 복합체인 Mitaplatin이 암세포에 높은 세포독성을 보이면서 정상세포에는 저독성임을 잘 보여 주었는데 이 화합물은 시스플라틴의 축방향으로 희귀약품인 디클로로아세트산(DCA)과 결합하고 있다[5]. 이 Pt(IV)-카르복시산 화합물은 세포에 있는 글루타싸이온에 의해 빠르게 환원되어 두 개의

다른 약인 DCA와 시스플라틴으로 각각 분리된다. DCA는 미토콘드리아에 있는 파이루베이트 디하이드로젬네이스 카이네이스 (PDK)를 저해하는 잠재적 항암제이다. DCA는 당분해와 ATP 합성을 조절하게 되고 동시에 시스플라틴은 세포핵을 목표로 공격한다. 결과적으로 이런 프로드럭(prodrug)은 이중의 항암효과를 통하여 세포자멸사를 유도하게 된다.

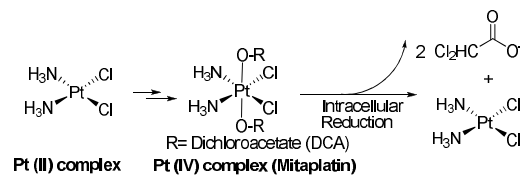


Fig. 1. Chemical structure of Mitaplatin and its mechanism of action.

암의 치료에 있어서 가장 큰 장애 중 하나는 암세포만을 타겟으로 하는 선택성에 대한 것이다. 결과적으로 오늘날 암의 치료는 암세포와 정상세포에 모두 해를 끼침으로써 환자는 질병보다도 그 치료과정에 더 큰 고통을 받고 있다. 현대의 학은 암세포를 선택적으로 죽이면서도 정상세포에는 독성이 덜한 항암제의 개발이 절실히 요구되고 있다. 게다가 세포는 오랜 시간의 약물치료에 대해 내성을 가지게 된다. 이러한 이유로 항암제는 내성이 생기기 전의 아주 짧은 시간 내에 선택적으로 암세포를 더 빨리 죽일 수 있는 능력이 요구된다. 이를 해결하기 위한 방법으로 본 연구에서는 파이루베이트 디하이드로젬네이스 카이네이스 (PDK)를 저해하는 잠재적 항암제인 butyric acid와 valproic acid를 시스플라틴에 도입하여 기존 시스플라틴 대비 항암효과에 대한 영향을 연구하였다[11~15]. 항암효과는 특히 시스플라틴에 내성을 가지는 암세포주(MCF-7)을 대상으로 효능을 평가하였다.

## 2. 실험

### 2.1. 재료 및 기기

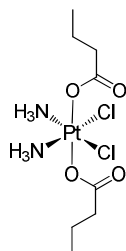
DMF, butyric anhydride, 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide (EDC)는 시그마/알드리치 시약을 정제 없이 사용하였다. 시스플라틴(IV) 화합물  $c,c,t-[Pt(NH_3)_2Cl_2(OH)_2]$ 은 기존에 알려진 합성법에 따라 합성하였다[10]. 합

성된 화합물의 구조는 Bruker NMR-400을 이용하여 확인하였다.

## 2.2. Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> compound 3의 합성

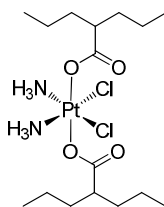
*c,c,t*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] 화합물 **2** (0.2g, 0.6 mmol)을 5mL의 DMF에 녹인 후 butyric acid anhydride (0.24g, 1.5mmol)을 넣고 상온에서 4시간 교반하였다. Diethyl ether를 첨가하여 침전물을 얻고 diethyl ether로 몇 번 더 재침전하여 순수한 화합물 **3**을 32%의 수율로 얻었다.

<sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 2.34 (t, 2H, *J*=4.0 Hz), 1.63~1.56 (m, 2H), 0.94 (t, 6H, *J*=6.0 Hz). <sup>13</sup>C-NMR(100MHz, CD<sub>3</sub>OD) 184.4, 39.2, 20.5, 14.3. ESI-MS (M-1) Calcd. = 472.0, Found 471.9.



## 2.3. Pt(IV)-Val<sub>2</sub> compound 4의 합성

5mL의 DMF에 valproic acid (0.22g, 1.5 mmol), 1-ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide (EDC, 0.25g, 1.6 mmol)을 넣고 상온에서 교반하였다. *c,c,t*-[Pt(NH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>(OH)<sub>2</sub>] (0.2g, 0.6 mmol)을 첨가한 후 모두 용해 될 때까지 12시간 정도 추가 교반하였다. n-Hexanes/diethyl ether을 첨가하여 오일상태의 생성물을 침전시켜 생성물을 얻고 이후 diethyl ether로 여러 번 재침전하여 화합물 **4**을 23%의 수율로 얻었다. <sup>1</sup>H-NMR (400MHz, CD<sub>3</sub>OD) 2.30~2.1 (m, 1H), 1.60~1.30 (m, 4H), 1.40~1.05 (m, 4H), 0.84~0.76 (m, 6H). <sup>13</sup>C-NMR(100MHz, CD<sub>3</sub>OD) δ 181.3, 47.2, 36.6, 21.9, 14.5. ESI-MS (M-1) Calcd. = 584.2, Found 584.1.



## 2.4. 세포주 배양

실험에 사용한 MCF-7 (human breast cancer) 세포는 한국 세포주 은행(Korean Cell Line Bank)으로부터 분양 받아 10% FBS가 첨가된 RPMI 1640 배지를 사용하여 37°C, 5% CO<sub>2</sub> incubator에서 계대 배양하여 실험에 사용하였다.

## 2.5. MTT assay

세포 배양용 96 well plate에 MCF-7의 세포를 well 당 5 x 10<sup>4</sup>의 수로 분주하고 24시간 동안 안정화시킨 다음 합성물을 배지에 적정 농도로 처리하고 48시간 후 배지에 tetrazolium bromide salt (MTT, Sigma)를 처리한 후, 3시간 동안 CO<sub>2</sub> incubator에서 반응시킨 다음 MTT 반응 용액을 깨끗하게 제거하였다. 그 후 200ul의 DMSO를 처리하여 well에 생성된 formazan을 모두 녹인 후 ELISA reader(Molecular Devices, USA)로 540nm에서 흡광도를 측정하였고 그 결과를 excel 프로그램을 사용하여 분석하였다.

## 3. 결과 및 고찰

### 3.1. Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> 화합물 3의 합성 및 구조확인

Pt(IV) 화합물 **2**는 시스플라틴으로부터 알려진 방법에 따라 합성하였다[10]. 산화반응을 통해 시스플라틴화합물은 산화상태가 2가에서 4가로 변하며 또한 축방향으로 하이드록실기를 가지는 Pt(IV)화합물 **2**가 된다. 이렇게 합성된 Pt(IV) 화합물에 butyric anhydride를 사용하여 화합물 **3**을 합성하였다.

<sup>1</sup>H-NMR에서 propionyl기는 α-카본의 CH<sub>2</sub>에서 기인하는 triplet이 2.34 ppm에서, 0.94 β-위치의 CH<sub>2</sub>에서 기인하는 피크가 1.63~1.56 ppm에서, 그리고 말단의 CH<sub>3</sub>에서 기인하는 피크가 0.94 ppm에서 나타났으며 출발물인 propionic acid의 chemical shift와는 다른 위치에서 나타나 시스플라틴에 propionyl기가 도입되었음을 확인할 수 있었다. 또한 <sup>13</sup>C-NMR에서 네 개의 피크를 각각 184.4, 39.2, 20.5, 14.3 ppm에서 확인하였다.

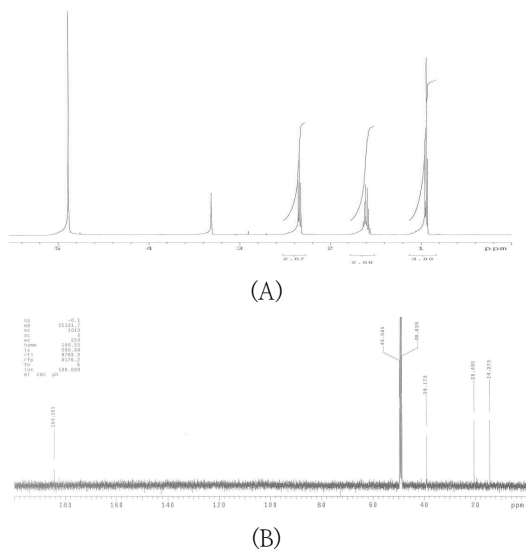


Fig. 2. NMR spectra of Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> compound 3.  
A: <sup>1</sup>H-NMR, B: <sup>13</sup>C-NMR. \* NMR solvent: MeOD

3.2. Pt(IV)-Val<sub>2</sub> 화합물 4의 합성 및 구조확인

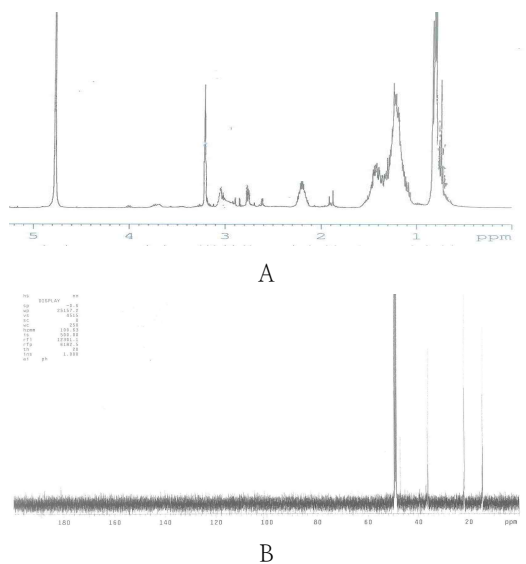


Fig. 3. NMR spectra of Pt(IV)-Val<sub>2</sub> compound 4.  
A: <sup>1</sup>H-NMR, B: <sup>13</sup>C-NMR. \*NMR solvent: MeOD

Pt(IV)화합물 4는 Pt(IV)-화합물 2로부터 EDC coupling반응을 이용하여 valproic acid를 도입하였다. Pt(IV) 화합물 4의 구조를 확인하기 위하여 NMR을 측정하였다. <sup>1</sup>H-NMR에서 valproic ester의 proton들은 각각 2.30~2.1 ppm, 1.60~1.30 ppm, 1.40~1.05 ppm에서 나타났으며 valproic acid의 proton nmr에서 나타나는 피크와 비교하였을 때 나타난 피크들이 훨씬 복잡하면서 broad해진 것을 알 수 있었다. 이는 치환된 valproic acid의 bulky한 사이즈 때문에 시스플라틴에 치환되었을 때 다수의 상호작용 때문에 발생하는 현상으로 보인다.

3.3. Pt(IV) 화합물 3과 4의 항암효과

고형암세포인 MCF-7의 증식에 있어서 합성된 백금계 화합물의 효능을 알아보기 위하여 여러 농도의 화합물 용액을 배지에 첨가하여 48시간 동안 배양한 후 MTT assay를 실시하였다. MTT assay 결과 5 μg/mL이상 처리 시 유의미한 암세포 증식 억제 현상을 관찰할 수 있었다. 50 μM 농도에서 효능을 비교해 보면 대조군으로 사용한 시스플라틴은 39%의 세포 사멸을 관찰할 수 있었다. 합성된 Pt(IV) 화합물 3과 4는 같은 농도에서 각각 54%와 83%의 세포 사멸이 확인되어 합성된 화합물 모두 대조군보다 효과가 더 좋았다. 특히 화합물 4가 3보다 더 강력한 사멸 효과를 나타내었다.

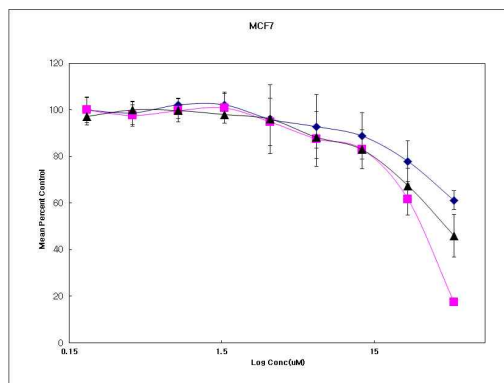


Fig. 4. Cytotoxic effect of platinum compounds . ◆ Cisplatin; ▲ Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> 3; ■ Pt(IV)-Val<sub>2</sub> 4.

합성된 platinum compounds 3과 4는 기존의 백금 항암제인 시스플라틴보다 MCF-7 세포에

대해 더 우수한 사멸 효과를 보였다. 그 이유는 이미 알려진 바와 같이 4가의 백금화합물은 암세포에서 환원제에 의해 환원되어 두 종류의 항암제로 분리된다. 본 연구에서 합성된 화합물 **3**과 **4**는 암세포 내에서 시스플라틴과 파이루베이트 디하이드로젠네이즈 카이네이즈 (PDK)를 저해하는 잠재적 항암제인 butyric acid 또는 valproic acid로 분리되어 각각의 타겟을 공격함으로써 이중 사멸효과 (dual killing effect)를 기대할 수 있기 때문에 기존의 항암제인 시스플라틴보다 효과가 더 뛰어난 것으로 추정하고 있다. 또한 PDK 저해제인 butyric acid와 valproic acid만을 처리하였을 경우에는 50  $\mu$ M 이상의 농도에서도 유의미한 사멸효과를 보여주지 않았다(보고되지 않은 결과). 결국 기존의 항암제를 각각 처리하는 것보다 결합된 형태의 합성 유도체들을 세포에 처리하는 것이 훨씬 더 효과가 큰 것으로 나타났다. 특히 valproic acid가 결합된 Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4**가 butyric acid가 결합된 Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> **3** 보다 사멸효과가 더 크게 나타났는데, 그 원인을 추정해 보건데 지방산의 hydrocarbon체인의 길이가 더 긴 valproic acid가 치환된 Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4**가 butyric acid 유도체인 Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> **3** 보다 소수성이 더 크므로 이러한 소수성이 더 큰 지방산이 도입된 화합물이 세포막을 통과하기 더 용이하므로 세포막을 통과해 들어온 화합물이 더 많아짐에 따라 세포 사멸 효과도 더 크게 나타난 것으로 보인다.

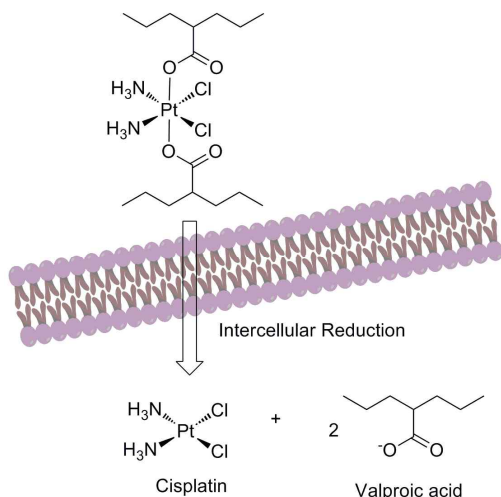


Fig. 5. Chemical structures and mechanism of action of Pt(IV) compounds.

합성된 백금 및 PDK 저해제인 지방산의 합성물질들은 Fig. 5에서 보이는 바와 같이 암세포의 막을 통과하여 진입하게 되면 세포내의 환원반응에 의해 두 개의 다른 항암제인 cisplatin과 PDK 저해제로 다시 분리 되어 각각의 타겟에서 저해효과를 나타내게 된다. 이러한 항암제의 작용원리 본 신약후보 물질들의 효능이 매우 뛰어남에도 불구하고 앞으로 더 다양한 기전 연구와 안전성에 대한 연구과정이 필요해 보인다. 특히 4가의 Pt(IV) 화합물은 2가의 시스플라틴에 비해 화학적 반응성이 낮으므로 주사제가 아닌 먹는 약으로써도 사용될 수 있는 가능성을 가지고 있어 앞으로 각광을 받을 것으로 생각된다. 따라서 본 연구 결과는 향후 다양한 종류의 새로운 백금계 항암제를 개발하는 데에 많은 도움이 될 것으로 사료된다.

#### 4. 결론

시스플라틴에 PDK 저해 효능을 가지는 지방산인 butyric acid와 valproic acid를 도입한 퓨전 항암제를 합성하였다. 본 연구로 다음과 같은 결과를 얻었다.

1. Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> **3**과 Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4**는 시스플라틴으로부터 합성하였다. 축방향으로 하이드록실기를 가지는 Pt(IV)화합물 **2**로부터 각각 butyric anhydride를 사용하거나 또는 valproic acid를 EDC coupling을 사용하여 합성하였다.
2. MTT assay를 이용하여 세포 사멸효과를 측정해 본 결과 50  $\mu$ M 농도에서 시스플라틴은 39%, Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> **3**과 Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4**는 각각 54%와 83%의 세포 사멸이 확인되었다. 이 중 Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4**가 MCF-7 암세포에 가장 강력한 사멸효과를 나타내었다.
3. 지방산 사슬의 길이가 더 긴 valproic acid가 치환된 Pt(IV)-Val<sub>2</sub> **4**가 butyric acid 유도체인 Pt(IV)-Bu<sub>2</sub> **3** 보다 사멸효과가 더 우수하였다.
4. PDK 저해제 중에서도 지방산 사슬이 더 긴 valproic acid가 도입된 Pt(IV) complex **4**가 butyric acid가 도입된 Pt(IV) complex **3**보다

다 더 항암효능이 우수함을 보였다. 즉 치환기의 소수성이 항암효과에 큰 영향을 줄 수 있음을 알 수 있었다.

### 감사의 글

본 연구는 한국연구재단 개인기초연구지원사업(과제번호:2017R1D1A1B03036334)에 의해 지원되었음.

### References

1. P. M. Takahara, A. C. Rosenzweig, C. A. Frederick, S. J. Lippard, "Crystal structure of double-stranded DNA containing the major adduct of the anticancer drug cisplatin", *Nature* Vol. 377, pp. 649-652, (1995).
2. M. R. Reithofer, A. Schwarzinger, S. M. Valiahd, M. Galanski, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, "Novel bis(carboxylato)dichlorido(ethane-1,2-diamine)platinum(IV) complexes with exceptionally high cytotoxicity", *Journal of Inorganic Biochemistry*, Vol. 102, pp. 2072-2077, (2008).
3. W. H. Ang, S. Pilet, R. Scopelliti, F. Bussy, L. Juillerat-Jeanneret, P. J. Dyson, "Synthesis and characterization of platinum(IV) anticancer drugs with functionalized aromatic carboxylate ligands: influence of the ligands on drug efficacies and uptake", *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 48, pp. 8060-8069, (2005).
4. W. H. Ang, I. Khalaila, C. S. Allardyce, L. Juillerat-Jeanneret, P. J. Dyson, "Rational design of platinum(IV) compounds to overcome glutathione-S-transferase mediated drug resistance", *Journal of American Chemical Society*, Vol. 127, pp. 1382-1383, (2005).
5. S. Dhar, Z. Liu, J. Thomale, H. J. Dai, S. J. Lippard, "Targeted Single Wall Carbon Nanotube Mediated Pt(IV) Prodrug Delivery Using Folate as a Homing Device", *Journal of American Chemical Society*, Vol. 130, pp. 11467-11476, (2009).
6. S. Dhar, S. Lippard, "Mitaplatin, a potent fusion of cisplatin and the orphan drug dichloroacetate", *Proceeding of the National Academy of Sciences*, Vol. 106, pp. 22199-22204, (2009).
7. K. R. Barnes, A. Kutikov, S. J. Lippard, "Synthesis, characterization, and cytotoxicity of a series of estrogen-tethered platinum(IV) complexes", *Chemical Biology*, Vol. 11, pp. 557-564, (2004).
8. V. Novohradsk, L. Zerzankova, J. Stepankova, O. Vrana, R. Raveendran, D. Gibson, J. Kasparikova, V. Brabec, "New insights into the molecular and epigenetic effects of antitumor Pt(IV)-valproic acid conjugates in human ovarian cancer cells", *Biochemical Pharmacology*, Vol. 95, pp. 133-144, (2015).
9. M. Galanski, B. K. Keppler, "Synthesis and characterization of new ethylenediamine platinum(IV) complexes containing lipophilic carboxylate ligands", *Metal-Based Drugs*, Vol. 2, pp. 57-63, (1995).
10. M. Galanski, B. K. Keppler, "Carboxylation of dihydroxoplatinium(IV) complexes via a new synthetic pathway", *Inorganic Chemistry*, Vol. 35, pp. 1709-1711, (1996).
11. M. G. Vander Heiden, L.C. Cantley, C. B. Thompson, "Understanding the Warburg effect: the metabolic requirements of cell proliferation", *Science*, Vol. 324, pp. 1029-1033, (2009).
12. M. Galanski, V. B. Arion, M. A. Jakupec, B. K. Keppler, "Recent Developments in the Field of Tumor-Inhibiting Metal Complexes", *Current Pharmaceutical Design*, Vol. 9, pp. 2078-2089, (2003).
13. R. He, Y. Chen, Y. Chen, A. V. Ougolkov, J. S. Zhang, D. N. Savoy, D. D. Billadeau, A. P. Kozikowski, "Synthesis and biological evaluation of triazol-4-

- ylphenyl-bearing histone diacetylase inhibitors as anticancer agents”, *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. pp. 1347–1356, (2010).
14. C. M. Giandomeico, M. J. Abrams, B. A. Murrer, J. F. Vollano, M. I. Rheinheimer, S. B. Wyer, G. E. Bossard, J. D. Higgins III, “Carboxylation of Kinetically Inert Platinum(IV) hydroxy Complexes. An Entree into Orally Active Platinum(IV) Antitumor Agents”, *Inorg. Chem.* Vol. 34, pp 1015–1021 (1995).
  15. M. Kartalou, J. M. Essigmann, “Mechanism of resistance to cisplatin”, *Mutation Research*, Vol. 478, pp. 23–43, (2001).
  16. A. Nemirovski, Y. Kasherman, Y. Tzaraf, D. Gibson, “Reduction of cis,trans,cis- $[\text{PtCl}_2(\text{OCOCH}_3)_2(\text{NH}_3)_2]$  by Aqueous Extracts of Cancer Cells”, *Journal of Medicinal Chemistry*, Vol. 50, pp. 5554–5556, (2007).