(19) 대한민국특허청(KR)
(12) 등록특허공보(B1)

(51) Int. Cl.[6]
A61K 31/37

(45) 공고일자 1999년03월20일
(11) 등록번호 특0177821
(24) 등록일자 1998년11월19일

(21) 출원번호 특1991-700768
(22) 출원일자 1991년07월22일
번역문제출일자 1991년07월22일
(86) 국제출원번호 PCT/EP 90/02003
(86) 국제출원일자 1990년11월23일
(81) 지정국 EP 유럽특허 : 오스트리아 벨기에 스위스 리히텐슈타인 독일 스페인 프랑스 영국 이탈리아 룩셈부르크 네덜란드 스웨덴
국내특허 : 오스트레일리아 브라질 캐나다. 핀란드 헝가리 일본 대한민국 노르웨이 러시아 미국

(65) 공개번호 특1992-700636
(43) 공개일자 1992년08월10일
(87) 국제공개번호 WO 91/07959
(87) 국제공개일자 1991년06월13일

(30) 우선권주장 P 3938902.2 1989년11월24일 독일(DE)
(73) 특허권자 프라에포메트 게젤샤프트 피어 메디지니셰 프레벤티온 엠베하 헬가 스톨제
독일 괴팅겐 37079 빌리-아이힐러-스트라세 25
(72) 발명자 토로네스 알.도우글라스
아일랜드 더블린 13 오핀크톤 로드 28
스톨제 헬가
독일 궤팅겐 D-3400 노넨쉬티크 86
마샬 어니스트
미국 KY 40503 렉싱톤 아크 로얄웨이 2885
젠커 크루트
독일 뮌헨 21 D-8000 안게스-베르너이어-스트르 131
(74) 대리인 이건주

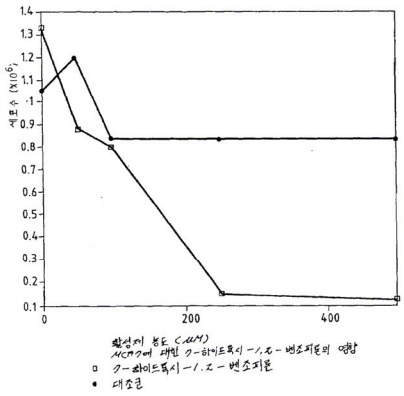
심사관 : 이병현

(54) 인체의 악성 종양을 치료하기 위한 1,2-벤조피론 유도체를 포함하는 약제학적 조성물

요약

본 발명은 인체의 악성 종양을 치료하기 위한 1,2-벤조피론 유도체의 용도에 관한 것이다. 본 발명에 따라 사용되는 상기 유도체는 예방적 치료 및 치료적 처리 모두에 적합하며, 특히 뇌종양 세포 및 인체의 신장암, 전립선암, 피부암 또는 폐암으로부터의 세포에 대해 증식-억제 효과를 나타낸다.

대표도



명세서

[발명의 명칭]

인체의 악성 종양을 치료하기 위한 1,2-벤조피론 유도체를 포함하는 약제학적 조성물

[발명의 상세한 설명]

본 발명은 인체의 악성종양의 예방적 치료 및 치료적 처치용 약물을 생산하기 위한 1,2-벤조피론 유도체의 용도에 관한 것이다.

종양적인 요법에 통상 이용되는 개념은 즉시 세포사시켜 결과적으로 원발성 종양 및/또는 전이의 체적을 감소시키기 위한 물질 또는 방사선 요법을 포함한다. 방사선-감응성 종양의 경우 상기 원리는 바람직하게는 국부적으로 이행될 수 있는 반면, 국부적용이 기술적으로 불가능하다면 세포 증식억제/세포 독성 물질을 사용하는 요법을 항상 전 유기체에 전신적으로 행한다. 체세포증식 억제/세포독성의 개념은 그 생물학적 효율에 있어서 통상의 부작용의 범위에 의해 제한된다. 따라서, 예를 들어 시스-백금과 같은 세포 독성 분자를 카보-백금으로 변질시켜 독성 부작용을 허용 가능 수준으로 감소시키는 시도가 행해져 왔다. 또다른 변형원리는 부작용을 감소시키면서 생물학적 효능등은 증가시키는 히알우론산분해효소, 베라프라밀(verapramil) 및 그 유사물과 같은 물질을 첨가하여 사용되는 세포증식억제제의 용량이 저하되도록 하는 것이다. 이러한 개념은 각 개인의 병력에 성공적으로 적용되어 왔다.

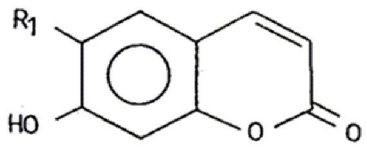
또한 직접적인 세포증식억제이외의 메카니즘을 통해 작용하거나 또는 세포증식억제외에도 다른 유용한 메카니즘을 갖는 물질의 사용이 시도되어 왔다. 그러므로 저농도에서 T4임파구의 생물학적 활성을 억제하는 사이클로포스프아미드는 공지되어 있다. 따라서, 면역 조절은 세포 증식억제로 달성될 수 있다.

종양학에 있어서의 새로운 치료개념은 식물 추출 또는 화학적 합성에 의해 순수한 물질로서 생산될 수 있는 천연물질에 특히 집중되어 왔다. 따라서 쿠마린이 세포 배양에 있어서 악성 종양 세포증식을 억제하고 동물 실험에 있어서 포유류의 경우 경험적으로 입증된 부작용이 생물학적 활성에 비해 무시할 수 있을 정도임은 밝혀졌다.[참조. 예를들어 K.S. Zaenker, 등 : Coumarin in melanoma patients, an experimental and clinical study, Drugs Exptl. Clin. Res. X(II) 767-774(1984); M.E. Marshall et al., Treatment of metastatic renal cell carcinoma with Coumarin(1,2-Benzopyrone) and Cimetidine, A pilot study, Journal of Clinical Oncology, 5, 862-866(1987); D. Thornes 등, Prevention of early recurrence of high risk malignant melanoma by coumarin European Journal of Surgical Oncology 15, 431-435(1989)].

본 발명에서 우선되는 문제는 인체의 악성 종양을 예방적 치료 및 치료적 처치를 하기 위한 천연 물질에 근거한 유용 물질을 만드는 것으로서, 상기 물질은 그 생물학적 활성에 있어서 이미 시험된 물질들에 비해 우수하며 동시에 독물학적으로 허용 가능한 것이다.

상기 문제를 해결코자 하기 일반식의 1,2-벤조피론 유도체의 사용을 제안한다.

화학식 1



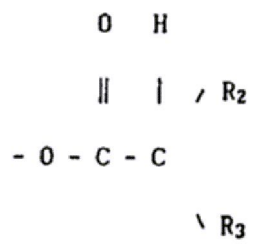
상기식에서, R_1은 수소, 할로겐 또는 하이드록시, 설포닐, 알킬, 하이드록시알킬, 아실옥시, 알콕시 또는 벤질 그룹 또는 글리코시드 그룹이다.

임의로 존재하는 알킬, 하이드록시알킬, 아실옥시 또는 악콕시 그룹에 있어서의 알킬그룹은 메틸, 에틸 또는 프로필 그룹이다.

글리코시드로서는, 예를 들어 알파 및 베타D-글루코시드, 특히 베타D-글루코피라노시드를 언급할 수 있다.

또한, 본 발명에 따르면, R_1이 하기 일반식의 아실옥시그룹인 1,2-벤조피론 유도체가 특히 적합하다.

화학식 2



상기식에서, R_2는 수소, 하이드록시 그룹 또는 아미노그룹이고, R_3는 수소, 또는 메틸, 에틸 또는 프로필 그룹이다.

본 발명에 따르면, 특히 바람직한 물질은 R_1이 수소, 하이드록시 그룹, 메톡시그룹 또는 베타D-글루코피라노실 그룹인 1,2-벤조피론 유도체이다. 이들 중 7-하이드록시-1,2-벤조피론(7-OH-1,2-BP)이 가장 바람직하다.

본 발명에 따라 사용되는 1,2-벤조피론 유도체는 공지된 방법(참조. Beilstein, E III/IV 18, 294ff)을 사용하여 제조할 수 있다.

특히 바람직한 본 발명의 화합물, 즉 7-하이드록시-1,2-벤조피론, 6,7-하이드록시-1,2-벤조피론, 6-(베타-D-글루코피라노실옥시)-7-하이드록시-1,2-벤조피론 및 6-메톡시-7-하이드록시-1,2-벤조피론은 더우기 천연물질로서 상업적으로 입수 가능하다.

또한, 글리코시드의 합성 생산은 예를 들어 문헌[H. Wagner 등, Chem. Ber. 102, 3006(1969)]에 따라 가능하다.

마지막으로, 본 발명에 따른 물질은 전문가에게 잘 알려진 방법을 사용하여 발효체내에서 효소적으로 생산할 수 있다.

놀랍게도 본 발명에 따른 1,2-벤조피론 유도체가 종양 세포 증식의 억제, 종양의 퇴화 또는 전이의 억제와 관련하여 예상외로 높은 생체내 활성을 나타내는 것으로 밝혀졌다. 표 1 내지 3에 나타난 바와 같이, 다양한 기시점의 다수의 종양세포에 대한 본 발명의 유도체의 생체내 증식 억제 활성은 입증 가능하다.

[표 1]

세포선 (인체)		증식배지중의 7-OH-1,2-BP의 농도	X일후 대조군과 비교한 증식 억제율(%)
기시점	기호	μmol/ml	
전립선암	LNCap	250	66X=10
성형수술성 성세포종	g-CCM	200	44 "
성형수술성 성세포종	g-UVW	200	40 "
유방암	MCF 7	200	64 "
방광암	ET	200	26 "
버키트 임파종 (백혈병)	Daudi	1.2	94.8X=9
교아종	U178MG	25	74X=12
신경아세포종	TP410N	25	62X=12
교아종	TP242MG	25	79 "
교아종	TP336MG	10	60 "
유표피암	A431	10	76 "

종래에 화학요법, 방사선 치료, 및 소위 BRM(생물학적 반응 조절제)로의 치료법중 그 어느것도 치료학적 성공은 거두지 못하였기 때문에, 본 발명에 따라 사용되는 1,2-벤조피론 유도체, 즉 7-하이드록시-1,2-벤조피론 및 6,7-하이드록시-1,2-벤조피론 및 그의 6-에테르 및 그의 6-에스테르가 뇌종양 세포(교아종 세포)에 대해 강한 증식 억제 효과를 갖는다는 사실(참조, 표 1 내지 3)은 특히 중요하다. 인터페론과는 달리, 본 발명에 따른 물질을 사용하면 생체내 뇌종양 세포의 증식 억제가 처음으로 나타났다.

신생물 변이 및 교아종 세포의 증가된 증식율과 관련하여, 두 자가 선분비촉진 물질성 루프(autocrinic loop)인 EGF 및 PDGF 시스템이 논의된다. 7-OH-1,2-BP에 의해 상기 시스템중 하나의 유전자 발현 수준에서 변형이 일어나는 것으로 나타났다. PDFG-A 및 PDFG-B에 대한 유전자 코딩의 전사가 억제(상승하는 mRNA 레벨 감소, 제8도 참조)되는 한편, PDGF 리셉터 및 EGF 시스템의 발현은 영향받지 않는다는 사실이 입증되었다(Seliger 등, 공개되지 않은 결과). 7-OH-1,2-BP에 의해 유발된 PDGF-mRNA의 억제가 관찰된 증식억제의 원인이 되며 동시에 자가 선분비촉진물질성 루프는 차단되는 것으로 생각된다.

본 발명에 따른 1,2-벤조피론 유도체는 백혈병외에도 신장암, 방광암, 전립선암, 피부암 또는 폐암의 치료에도 또한 특히 적합하다.

본 발명에 따른 물질은 단독으로 사용될 수 있고 또한 관례적인 치료제와 혼합하여 다른 악성 종양 치료법과 병행하여 사용될 수 있다.

즉, 본 발명에 따른 1-2,벤조피론 유도체와 시스-백금 및 5-플루오로우라실(5-FU)과 같은 화학요법제를 혼합 사용하면 예상외의 상승 효과를 나타낸다(참조. 실시예 6).

본 발명에 따른 물질은 더우기 방사선 요법과의 병행뿐만 아니라 사이토킨 및 모노킨을 사용하여 관례적인 요법에 추가하여 사용되어 그 효능이 증가되고 치료 기전의 독성이 감소될 수 있다. 전립선 암으로부터의 각각의 세포 선들에 대해 7-OH-1,2-BP와 종양-괴사-인자(TNF)를 혼용하면 세포 증식의 부가적 억제가 초래되는 것으로 나타났다(참조. 실시예 7).

더우기 예를 들어 LNCap세포와 같은 호르몬 의존성 종양 세포의 경우 7-OH-1,2-BP에 의해 생긴 증식 억제는 예를 들면 테스토스테론을 사용하는 관례적인 부가의 호르몬 요법에 의해 상승될 수 있는 것으로 밝혀졌다(참조, 실시예 8).

본 발명에 따른 물질의 사용은 악성 종양의 예방 및 급성 치료와 보조치료에도 고려될 수 있다.

본 발명에 따른 물질은 사용하는 예방 치료의 경우에, 화학 예방(chemoprevention)에 대한 상기 물질의 능력 및 종양원 발현의 억제에 대한 그 능력은 특히 중요한 역할을 한다. 종양원의 보균자는 상기 종양원이 여러가지 방법으로 활성화되고 발현 산물이 종양 형성을 유발할 수 있기 때문에 암에 걸릴 위험이 크다. 상기 용어 화학예방은 종양원 발현으로 유발되는 종양 형성을 방지하거나 지연시키는 적절한 물질의 능력을 말한다. 유전자변이(transgenic) 마우스의 경우는 시험 화합물의 화학 예방 효과를 시험할 특별한 기회를 부여해 준다. 종양원 MTV/ras는 유전자 조작에 의해 특정 품종의 마우스의 번식력 있는 난포세포로 변환되고 난포세포는 재착상되어 분만된다. 충분히 자란 동물 및 그의 소생은 체세포내에 종양원을 보유한다. 유전자변이 마우스는 빈번히 종양을 일으킨다. 본 발명에 따르면 상기 동물의 경우, 7-OH-1,2-BP에 의한 영구적 치료 덕분으로 대조군 동물에 비해 종양 출현율이 현저히 저하됨을 알 수 있다(참조. 실시예 11).

이와 관련하여, 종양이 불균등하게 C-myc 및 H-ras와 같은 특정 종양원을 발현시키는 환자의 생존시간이 종양이 어떤 증가된 종양원 발현도 나타내지 않는 종양 환자의 생존 시간보다 적음 또한 공지이다. 본 발명에 따르면 본 발명의 물질, 특히 7-OH-1,2-BP가 종양원 과다 발현된 종양 세포의 세포 증식을 억제한다는 것을 알 수 있다(참조, 실시예 12).

또한 본 발명에 따른 1,2-벤조피론은 저용량으로도 면역조절 효과를 나타내는 것으로 밝혀졌다(참조. 실시예 10 및 제5 내지 7도). 특히 인체의 단핵 세포(MNC)의 경우, 세포를 세균성 기원의 리포폴리삭카라이드와 같은 내독소 및 7-OH-BP가 함유된 혼합물로 자극하면 여러가지 사이토킨의 연계된 상호작용이 초래되는 것으로 나타났다. 제7도가 보여주는 바와 같이, Ⅰℓ-1 레벨에서 10배 증가되면 TNF-(종양-괴사-인자) 레벨에서 7배 증가된다. Ⅰℓ-6레벨에서 10배 증가되면 TNF-레벨에서는 4배증가되긴 하지만, 유사한 결과가 Ⅰℓ-6에서도 수득된다.

본 발명에 따른 물질을 상술한 방법으로 악성 종양의 예방적 치료에 사용한다면, 예를 들어 환자당 50 내지 300mg의 1일 용량을 사용할 수 있다.

악성종양의 치료적 처치의 경우, 본 발명에 따른 물질은 예를 들어 300 내지 6000mg보다 많은 1일 용량에서 효과를 나타내는 증식 억제 특성을 갖는다는 것이 강조할 점이다. 따라서 이는 1차 치료후 처치에 적용하여 종양 재발 및 전이 형성이 방지되도록 한다.

특히 지금까지의 악성 종양의 일반적인 치료법과 관련하여 특별히 중요한 것은 본 발명에 따른 물질이 인체에 사용되었을 경우, 극히 많은 용량(7000mg/1일)이 장기간 투여되었을지라도, 어떤 종류의 독성 부작용도 전혀 관찰되지 않았다는 사실이다(참조. 실시예 9).

그러므로 본 발명에 따라 사용되는 물질은 발명의 목적을 위해 대단히 효능적인 동시에 무독하다.

상술한 바와 같이, 본 발명에 따라 사용되는 1-2-벤조피론 유도체는 단독으로 또는 혼합하여, 바람직하게는 중지된 세포 증식 억제제 및/또는 사이토킨과의 고정 혼합액으로 적용할 수 있다. 단독으로 투여할 경우, 1일 용량은, 지시 및 치료 목표에 따라, 면역조절 효과가 중요시될 것이라면 50 내지 300mg의 양으로, 세포증식 억제 효과에 중점을 둘 것이라면 300 내지 6000mg의 양으로 변화된다.

상기 용량은 예를 들어 용액, 당의정, 캡슐, 정, 주사 또는 주입용액과 같은 일반적인 약제의 형태로,

경구적으로, 또는 예를 들면 근육내, 동맥내, 정맥내, 및 국부적(예, 경피 경고 형태)과 같이 비경구적으로 투여될 수 있다.

본 발명에 따라 제안된 활성제를 함유한 멸균 수용액은 적용하기에 적합하다. 상기 용액은, 필요에 따라, 적절한 방법으로 완충될 수 있고 또한 액체 희석제는 충분한 염용액 또는 글루코즈로서 등장적으로 제공될 수 있다.

본 발명에 따라 사용되는 1,2-벤조피론 유도체를 기본으로 하는 약물을 제조하기 위하여, 일반적인 담체 및 첨가제를 사용할 수 있다. 일반적인 담체는, 예를 들어 물, 생리학적 가열처리 염 용액, 알코올, 폴리에틸렌 글리콜, 글리세린 에스테르, 젤라틴, 락토즈 및 전분과 같은 탄수화물, 탄산칼슘, 마그네슘 스테아레이트, 탈크이다. 일반적인 첨가제는 예를 들어 보존제, 활탁제, 습윤제 및 유화제, 착색제, 향료 및 방향족 물질이다. 담체 및 첨가제의 선택은 본 발명에 따른 제제를 장내로, 비경구로 또는 국소적으로 적용할지에 의존한다.

본 발명은 실시예와 관련하여 하기에서 설명될 것이다.

[실시예 1]

다양한 종양 세포선에 대한 7-하이드록시-1,2-벤조피론의 증식 억제 효과-쿠마린과 비교

하기 세포선을 조사한다:

[표 2]

교아종	U178MG
신경아세포종	TP410N
교아종	TP242MG
교아종	TP336MG
유표피암	A431

신경아 세포종 세포선 및 3종의 교아종 세포선들을 10%소태아 혈청(FCS) 및 통상적인 양의 페니실린, 스트렙토마이신(Pen/strep) 및 글루타민이 첨가된 햄(Ham)의 F10배지에서 배양한다. 유표피세포선을 마찬가지로 10% FCS 및 통상적인 양의 글루타민 및 스트렙토마이신이 첨가된 개질된 이글(Eagle) 배지(MEM)에서 배양한다.

예비 시험으로, 각 세포선의 5x10개의 세포를 각 경우에 초기에 96-웰-플레이트(96-well-plates)에 평판하여 다양한 농도, 즉 7-하이드록시-1,2-벤조피론 배지 ㎖에 대해 150μ㏖, 75μ㏖, 37.5μ㏖, 18μ㏖ 및 9μ㏖로 48시간 동안 배양한다. 비처리된 세포를 대조군으로 사용한다. 그 다음, 세포를 H-터미딘을 사용하여 8시간 동안 배양한다. 세포에 의해 흡수된 방사능을 통상적인 방법으로 측정한다. TP336 및 A431세포선은 U178, TP242 및 TP410N에 비하여 7-OH-1,2-BP에 대해 더욱 감도가 좋은 것으로 나타난다. 그러나, 37.5μM/㎖ 농도의 활성 물질은 어떤 세포에 대해서는 세포 독성이 있는 것이 아니라 세포 증식 억제성이 있다.

상기 결과를 기초하여 모든 경우에 12일에 걸친 증식 곡선을 상기 세포선들에 대해 설정하는데, 이때 세포선 TP336MG 및 A431은 각각 10μ/㎖의 7-OH-1,2-BP가 함유된 상술한 조건하에서 배양하는 반면, 세포선 TP242MG, TP410N 및 U178MG의 경우는 25μM/㎖의 활성 물질을 사용한다. 각 경우에 5x10개의 세포를 T병에 평판하여 비처리된 세포를 동일한 조건에서 배양하여 대조군으로 사용한다. 세포수는 3, 5, 7, 10 및 12일후에 현미경으로 측정한다.

그 결과는 하기 표 3에 기술되어 있다.

[표 3]

세포선	7-OH-1,2-BP의 농도(㎍M/㎖)	하기 일 경과후의 세포수(x10⁴) 3일	5일	7일	10일	12일후의 대조군과 비교한 증식 억제율(%)	
U178MG	25	15	13	26		2737	74%
대조군		23	57	84	91	141	
TP410N	25	8	20	36		4250	62%
대조군		25	45	71	97	132	
TP242MG	25	4	6	8	10	12	79%
대조군		10	15	23	49	57	
TP336MG	10	7	11	22	18	18	60%
대조군		13	25	39	34	45	
A431	10	4	10	3	12	21	76%
대조군		6	24	45	56	87	

상기표는 모든 세포선에 대해 발생된 명백한 억제가 관찰되고 25μM/㎖를 사용한 TP242MG의 경우에 대조군과 비교하여 거의 80%의 증식 억제율이 관찰됨을 보여준다. 인터페론을 제외하고는 그 어떤 유용물질로도 달성될 수 없었던 뇌종양세포U178MG, T0410N, TP242MG 및 TP336MG에 대한 증식억제는 특히 중요하다.

[비교용 시험]

증식 곡선의 산출은 7-OH-1,2-BP대신에 쿠마린을 상응하는 농도로 사용함을 제외하고는 그대로 반복된다.

예비시험에서 뿐만 아니라, 증식 곡선의 산출의 공식화에 있어서도, 쿠마린으로 처리한 세포 샘플과 대조군간에 현저한 차이가 관찰되지 않는다.

7-위치에서 치환되지 않은 화합물이 아니라, 7-하이드록시-1,2-벤조피론만이 조사 세포선에 대해 증식억제 작용을 나타낸다.

[실시예 2]

유방암 세포에 대한 7-OH-1,2-BP의 증식 억제 효과

유방암에서 채취한 MCF 7 세포선을 10%FCS가 첨가된 DMEM-S 10에서 통상의 방법으로 10일간 배양한다. 그런 다음 제1도에 주어진 농도의 7-OH-1,2-BP로 배양한 다음 생존율 및 세포수는 공지된 방법으로 에티듐-브로마이드/아크리딘 오랜지법을 사용하여 측광법으로 측정한다. 그 결과가 제1도에 도시되어 있다.

그 결과는 유방암세포에 대한 7-OH-1,2-BP의 세포증식 억제효과를 명백히 보여준다.

[실시예 3]

인간의 성형수술성 성세포종 세포에 대한 7-OH-1,2-BP의 신생물 억제 효과

인간의 성형수술성 성세포종으로부터의 6-UVW선의 세포를 사용하고 L-글루타민 및 10%FCS가 함유된 DMEM: 햄의 F12배지(1:1)를 사용함을 제외하고는 실시예2에 관한 방법을 그대로 반복한다. 그 결과는 제2도 도시되어 있다.

그 결과는 7-OH-1,2-BP가 인체의 성형수술성 성세포종 세포에 대한 세포증식억제 효과를 갖고 있음을 나타내는 것이다.

[실시예 4]

여러가지 종양 세포선에 대한 7-하이드록시-1,2-벤조피론 및 그의 유도체의 증식 억제 효과

7-하이드록시-1,2-벤조피론(7-OH-쿠마린), 6,7-하이드록시-1,2-벤조피론(에스쿨레틴), 6-베타-D-글루코피라노실옥시-7-하이드록시-1,2-벤조피론(에스쿨린) 및 6-베톡시-7-하이드록시-1,2-벤조피론(스코폴레틴)의 증식 억제 효과를 하기 세포선에 대해 조사한다:

[표 4]

교아종	TP242MG
	TP483MG
신경아세포종	TP410N
백혈병	K562
	Daudi
부신종	CAK I-1
	CAK I-2
방광 종양	HCV
유방암	MCF-7
	Z-R-75-1
전립선암	GV1
	AtT-20
흑색종	A-375
	G-361

세포선은 실시예 1에서 지시한 바와 같이 배양한다.

각 경우에 종양 세포선에 대한 본 발명의 1,2-벤조피론 유도체의 증식 억제 효과는 H-티미딘을 삽입하여 증식 곡선과 관련하여 나타낸다.

H-티미딘 분석

24-웰-플레이트에 각 경우에 웰당 시험할 세포선 10개를 접종시킨다. 약 48시간 후에 반-합류한 다음 배

지를 바꾸어 당해의 활성 물질이 함유된 배지도 교체한다. 또 48시간 후에 0.25μCi H-티미딘[암머샴(AmmerSham)]을 각 웰에 가하고 세포를 24시간 더 배양한다. 그런 다음 배양물을 빙냉각한 PBS로 2회 세척하고 고분자량의 H-방사능 물질을 4℃에서 1시간 동안 5% 트리클로로아세트 산으로 침전시킨다. 세포를 PBS로 세척한후 H-방사능물질을 0.3M NaOH로 가용화시키고 계수기에서 측정한다. 활성물질로 처리한 티미딘 삽입 세포를 비처리한 세포와 비교하여 증식 억제율을 정한다. 그 결과는 하기 표 5에 기술되어 있다.

[표 5]

A) 고아종 세포 TP242MG/TP483MG

활성물질 농도 (μM/ml)	대조군의 7-OH-1,2-BP	^{3}H-티미딘 트레이서(%)		
		에스쿨레틴	에 스 쿨 린	스토폴레틴
1	93/97	96/98	100/99	99/100
2	91/95	96/94	98/97	93/95
4	91/89	89/85	95/89	85/89
8	84/81	87/77	81/83	87/86
16	73/69	75/73	73/74	84/78
25	55/66	72/69	68/66	79/72
50	43/39	60/62	65/54	74/67
100	39/32	44/55	61/51	61/63
250	35/27	32/39	53/48	52/54
500	32/25	21/28	49/45	48/50

[표 5a]

B) 신경아 세포종 세포 TP41ON

활성물질 농도 (μM/ml)	대조군의 7-OH-1,2-BP	^{3}H-티미딘 트레이서(%)		
		에스쿨레틴	에 스 쿨 린	스토폴레틴
1	96	94	100	100
2	91	86	96	98
4	80	75	85	95
8	73	69	76	87
16	67	64	69	82
25	50	48	62	74
50	48	42	54	71
100	42	40	43	65
250	36	34	38	62
500	21	29	30	54

[표 5b]

C) 백혈병 세포 Daudi/K-562

활성물질 농도 (μM/ml)	대조군의 7-OH-1,2-BP	^{3}H-티미딘 트레이서(%)		
		에스쿨레틴	에 스 쿨 린	스토폴레틴
1	98/100	94/97	100/100	96/100
2	89/91	96/95	98/100	94/97
4	82/84	83/84	93/96	80/90
8	76/76	75/77	87/88	79/85
16	63/67	69/62	80/81	71/82
25	54/53	63/58	71/72	64/71
50	49/47	61/50	69/70	58/66
100	38/42	57/47	52/58	53/52
250	35/39	54/44	48/51	49/47
500	28/37	39/31	44/40	41/44

[표 5c]

D) CAKI 세포 CAKI-1/CAKI-2

활성물질 농도 (μM/ml)	대조군의 7-OH-1,2-BP	^{3}H-티미딘 트레이서(%)		
		에스콜레틴	에 스 콜 린	스토폴레틴
1	100/95	96/98	100/99	100/99
2	98/92	93/94	94/96	98/96
4	90/88	88/90	92/90	87/84
8	81/77	80/87	83/84	81/80
16	76/71	62/82	78/73	80/76
25	62/65	58/69	74/72	73/71
50	57/54	53/65	65/66	69/66
100	49/46	45/54	60/50	67/61
150	44/39	40/53	53/56	62/59
500	40/35	32/50	47/52	55/53

[표 5d]

E) HCV 세포

활성물질 농도 (μM/ml)	대조군의 7-OH-1,2-BP	^{3}H-티미딘 트레이서(%)		
		에스쿨레틴	에 스 쿨 린	스토폴레틴
1	98	99	100	97
2	95	94	98	90
4	88	87	95	86
8	82	83	89	81
16	74	78	86	77
25	69	76	83	69
50	63	71	79	65
250	57	64	76	60
500	50	62	75	57

[표 5e]

F) 유방암 세포 MCT/Z-R-7 5-1

활성물질 농도 (μM/ml)	대조군의 7-OH-1,2-BP	^{3}H-티미딘 트레이서(%)		
		에스쿨레틴	에 스 쿨 린	스토폴레틴
1	98/96	100/98	99/100	100/98
2	94/91	98/96	91/97	97/96
4	88/82	92/89	88/89	94/91
8	82/73	85/84	80/85	86/83
16	75/65	76/77	71/75	81/79
25	69/55	69/70	69/72	76/72
50	62/49	64/61	62/64	73/64
100	51/43	58/53	51/56	69/57
250	43/39	50/46	49/51	62/55
500	29/27	42/39	42/47	54/50

[표 5f]

G) 전립선암 세포 GV-I/At T20

활성물질 농도 (μM/ml)	대조군의 7-OH-1,2-BP	^{3}H-티미딘 트레이서(%)		
		에스큘레틴	에 스 큘 린	스토폴레틴
1	100/98	97/93	97/100	100/98
2	89/89	93/89	95/94	98/94
4	83/85	88/86	85/89	91/89
8	75/78	84/75	84/83	88/84
16	69/65	78/75	79/72	82/76
25	63/60	75/67	76/69	78/68
50	51/62	63/62	68/64	71/62
100	39/44	60/55	60/58	63/57
250	36/38	58/49	51/49	61/49
500	27/31	50/44	43/44	51/43