

634.91  
L 2936

최 종  
연구보고서

GOVP 12011082

한국산 수목으로부터 생리활성 물질개발과  
생리활성 검색자료 전산화

**Identification of Bioactive components from Korean Woody  
Plants and Their Bioactivity Data Base**

연구기관

국민대학교

농 립 부



## 제출문

농림부 장관 귀하

본 보고서를 “한국산 수목으로부터 생리활성 물질개발과 생리활성 검색자료 전산화”  
과제의 최종보고서로 제출합니다.

1999. 10. 31

주관연구기관명: 국 민 대 학 교

총괄연구책임자: 김 영 균

연 구 원: 곽 병 만

연 구 원: 고 영 남

연 구 원: 김 성 식

연 구 원: 김 상 현

협동연구기관명: 서 울 대 학 교

협동연구책임자: 한 용 남

협동연구기관명: 한국화학연구소

협동연구책임자: 유 시 용

협동연구책임자: 이 중 교

여 백

## 요 약 문

### I. 제목

한국산 수목으로부터 생리활성 물질개발과 생리활성 검색자료 전산화

### II. 연구개발의 목적 및 중요성

수목을 포함한 각종 식물들은 인류가 생명 현상을 유지하기 위하여 활용하고 있는 거의 대부분의 자원들을 공급하여 주고 있는 최대의 천연 보고라고 할 수 있다. 이들은 우선 인간이 삶을 유지하기 위한 귀중한 식품으로서 이용되어지고 있을 뿐만 아니라 목재, 고무 및 화석 연료 등 이루 말할 수 없이 다양한 형태로써 광범위하게 사용되어지고 있다.

식물들이 우리 인류에게 주고 있는 수많은 혜택 중에서 결코 간과하여서는 안될 부분은 인간이 살아가면서 직면하게 되는 각종 질병들에 대한 해결책의 대부분이 식물들 속에 숨겨져 있다는 사실이다.

다시 말하자면 오늘날 모든 질병의 예방 및 치료에 사용되고 있는 각종 의약품들의 기원을 살펴보면 상당수가 식물체에 함유되어 있는 고유 성분들이거나, 혹은 이들을 기초로 하여 모방된 유사 화합물들이라는 사실이다. 따라서 식물은 모든 의약품의 창고이고 모든 의약품은 바로 식물에서 유래한다고 하여도 결코 지나친 말이 아니다. 현재 우리 나라에서 자생 혹은 재배되어지고 있는 수목들에 대하여서도 체계적으로 여러 가지 약리 활성들을 검정하여 본다면 그 중에는 틀림없이 훌륭한 의약품의 자원이 될 수 있는 수종들이 있다.

실제로 우리 나라에 자생하고 있는 수목들의 대부분의 경우 목재 혹은 관상용 이상의 가치를 가지고 있는 경우는 극히 일부에 지나지 않고 있다. 그 이유는 결론적으로 이들 수목들에 대한 체계적이고 과학적인 약리활성 연구가 미진 혹은 전무하였던 결과에 기인한다고도 말할 수 있겠다. 따라서 국내산 수목에 대한 체계적인 생리 활

성 효과를 검정하고 그 검정 결과 자료를 전산화하여 차후에 행하게 될 기타 약리활성 검정 등에도 활용할 수 있도록 하여야 할 필요가 있다. 아울러 우수한 생리 효과를 나타내는 수종에 대하여서는 집중적인 연구를 통하여 그 활성 성분에 대한 의약품으로서의 활용 가치를 정립하여야 할 것이다.

세계 각국의 자국 자원에 대한 보호주의의 확산과 지적 재산권 협약 등으로 외국 자원을 유입하기가 점차 어려워지고 있으며, 수입에 대한 막대한 사용료(royalty)를 지불해야 하므로 이에 대처하기 위한 자국의 능동적인 제품 개발이 필요하다.

본 연구를 기초로 국내 수목으로부터의 생리 활성 물질 개발 연구들이 활성화되어 진다면 의약품 개발에 대한 세계적인 추세에 동참하게 되고, 치료 효과가 좋은 약제가 개발되면 수많은 환자들에게 큰 도움이 될 것이다. 전술한 바와 같이 수종의 활용 가치를 높여 임농가의 소득 증대에도 큰 몫을 하여줄 수 있을 뿐더러 우리 수목 자원으로부터 새로운 의약품의 개발이라는 보다 큰 과학 기술적 성과를 얻을 수 있다. 이러한 성과들이 각종 의약품 화학 혹은 임학 관련 학문에 파생시킬 수 있는 부수 효과는 이루 말할 수 없이 커져 나갈 수 있으리라 기대한다.

세부분야별 연구개발목적 및 그 중요성은 각 장에서 구체적으로 논하기로 한다.

### III. 연구개발 목표 및 내용

#### 1. 연구개발의 목표

한국산 수목의 추출물을 대상으로 생리활성을 검정하고 생리활성을 토대로 이들 수목으로부터 생리활성 성분을 분리·정제하여 화학구조를 밝히고자 한다.

#### 2. 연구개발의 내용

국내에서 채집 가능한 수목 181종을 채집하여 건조 후, 잘게 부순 후, MeOH로 추출하여 농축한 후, 이들 각 수목의 조추출물을 대상으로 항혈액응고효과, 항암효과 및 항바이러스효과등을 검정하고 이 중 활성을 나타내는 수목의 경우 대량 추출하여 이들로부터 생리활성 유효성분을 분리·정제하는 연구를 하였다. 연구개발 방법과 연

구내용은 세부분야별로 각 장에 상세히 기록하였다. 본 연구의 대상 수목의 목록은 다음 쪽의 Table 1과 같으며, 이들 수목을 code화하여 각각의 생리활성을 검정하였다. 각 수목의 추출물에 대한 생리활성 검정결과는 부록에서 제시하였다.

## IV. 연구개발 결과 및 활용에 대한 건의

### A. 결과

국내에서 채집 가능한 수목181종을 비롯하여 202가지의 추출물에 대한 생리활성을 검정하였다. MeOH 추출물에 대한 항혈액응고 작용을 검색한 결과 A급으로 2종, B급으로 23종, C급으로 37종, D급으로 14종의 수목이 생리활성을 나타냄이 확인되었다. 항바이러스 약효검색에서는 대체로 활성을 나타내지 않으나 YK96069, YK96077, YK97016, YK97047, YK97058, 그리고 YK97076에서 약하나마 활성을 나타냄이 관찰되었고, 항암활성에 대한 검색결과는 상당수의 수목 추출물이 암세포의 성장을 강하게 억제함을 보여 주었으므로 이 분야에 대한 지속적인 연구를 통하여 유용한 생리활성물질의 개발이 요구된다.

지금까지 “일본목련 (*Magnolia obovata*)의 줄기껍질추출물로부터 항암성분들의 분리” 라는 주제의 연구성과를 국내학술대회 (97년도 목재공학회, 97년도 대한약학회)에서 발표하였고, 독일에서 발행하는 SCI journal “Planta Medica” 투고하였으며 (Planta Medica 65, 291-292 (1999), “중산국수나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질 MeOH추출물로부터 분리한 항암활성물질”에 관한 연구내용은 국내학술대회 (98년도 목재공학회, 98년도 대한약학회)에서 발표하였으며 현재 SCI journal “Planta Medica” 투고하여 게재승인을 받았다. 또한, “함박꽃나무의 줄기껍질에서 분리한 Ras-farnesyl transferase의 저해물질에 관한 연구”도 학술지투고를 검토하고 있다. 한편 betulinic acid와 ursolic acid를 해당식물자원 {국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.) 및 YK96105 : 플라타너스나무 (*Platanus acerifolia* Willd.)}으로부터 다량으로 확보할 수 있는 간편한 방법을 확립하여 현재 잡목 혹은 값싼 街路樹용으로만 사용되고 있는 이들 樹種들을 高附加價値 상품으로 개발할 수 기술을 개발하

여 현재 2건의 특허를 출원 (출원번호:10-1999-0033000, 제목: 증은추출장치와 진공 크로마토그래피를 이용한 식물성분의 분리·정제공법), (출원번호:10-1999-0038466, 제목: 플라타나스나무로부터 베헤린산의 생산기술)하였다.

## 1. 항혈액응고물질 개발연구

가) 한국산 수목으로부터 항혈액응고작용 물질을 개발하기 위하여 생물활성 검색 방법으로 조직인자(TF) 저해활성 측정법을 도입하였다. 조직인자는 혈관내피 세포에 존재하면서 혈관 손상시 혈액으로 유입되어 혈액응고계의 내인계 경로 및 외인계 경로를 모두 개시하는 인자로 알려져 있기 때문이다.

나) 한국산 수목 239 종의 메탄올 추출물에 대하여 TF 저해 활성을 검색하여 TF 1 unit 당 50% 저해활성(IC<sub>50</sub>/TF unit)을 측정하여 역가를 평가하였다. 저해활성(IC<sub>50</sub>/TF unit)이 0.1 $\mu$ g 미만일 때 A급, 1 $\mu$ g 미만인 경우 B급, 10 $\mu$ g 미만인 경우 C급, 100 $\mu$ g 미만인 경우 D급, 100 $\mu$ g 이상일 때 E급으로 분류하였다. 항혈액응고작용을 검색한 결과 A급 2종(0.99% 점유), B급 23종(11.39%), C급 37종(18.32%), D급 14종(6.93%), 나머지는 E급으로 62.37% 이었다.

다) 항혈액응고 물질을 분리하기 위하여 먼저 A급 2종에 대하여 용매분획을 실시한 결과 유기용매층으로 이행되지 않고 수층에 저해활성이 잔존하였다. 수층의 유효 성분은 탄닌, 폴리페놀성 물질이거나 또는 공기 중 산소에 의해 쉽게 활성이 소실되는 물질로 추정하였다.

라) 식물채집이 원활한 16종의 식물에 대해 용매분획을 실시하고 유기용매층에 생물활성이 이행되는 검체 중에서 YK96084로부터 강력한 TF 저해활성 물질인 compound I (IC<sub>50</sub>/TF unit, 0.078 $\mu$ g)을 분리하였다. 화학구조를 결정한 결과 2-(ethylamino) ethanol임을 동정하였다.

## 2. 항암활성 효과검정 및 물질개발

가) 강력한 항암효과를 보여주는 일본목련 (*Magnolia obovata*)의 줄기껍질추출물로부터 유효성분 즉 항암성 물질의 분리를 시도하였다. 즉 A549의 4종의 human tumor cell line에 대한 실험관 내 세포성장저해효과 (SRB법)를 지표로 하여 활성유도분획법 (activity-guided fractionation)에 준하여 유효성분들을 추적한 결과 처음 시료로 사용한 일본목련 (*Magnolia obovata*)의 줄기껍질추출물의 항암효과에 비하여 약 100배정도 탁월한 효과를 보여주는 magnolol을 비롯한 활성성분물질 6종을 최종 분리하였다.

나) 중산국수나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질추출물로부터도 동일한 방법으로 유효성분들을 추적한 결과 처음 시료로 사용한 중산국수나무 (*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질추출물의 항암효과에 비하여 약 100배정도 탁월한 효과를 보여주는 활성성분물질 7 종을 순수 분리하여 이들의 화학구조를 완전히 규명하였다.

다) 함박꽃나무 (*Magnolia sieboldii*)의 줄기껍질추출물에 대하여서는 이제껏 본 연구진이 주로 활용하여온 human tumor cell line에 대한 실험관 내 세포성장 저해효과(SRB법)를 지표로 하는 항암효과 평가법 이외에 새로이 확립한 Ras farnesyltransferase 활성저해효과를 지표로 활용한 항암활성 평가법을 활용하여 활성유도분획법 (activity-guided fractionation)에 준하여 유효성분들을 추적한 결과 처음 시료로 사용한 함박꽃나무 (*Magnolia sieboldii*)의 줄기껍질추출물의 효소활성 저해효과에 비하여 약 100배정도 탁월한 효과를 보여주는 활성성분물질 1종을 순수 분리하여 그 화학구조를 규명할 수 있었으며 아울러 이 활성성분 이외 기타 활성물질들을 추적분리 중에 있다.

라) 또 다른 자원인 국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.)의 줄기껍질추출물로부터 유효성분 즉 항암성 물질의 분리를 시도한 결과 국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.)의 줄기껍질추출물의 항암효과에 비하여 약 50배정도 탁월한 효과를 보여주는 활성성분물질 2 종을 순수분리 하였으며 현재 기타 활성물질들을 분리 중에 있다.

마) 또 다른 시료, 플라타너스나무 (*Platanus acerifolia* Willd.)의 줄기껍질추출물에 대하여서도 활성유도 분획법 (activity-guided fractionation)에 준하여 유효성분들을 추적한 결과 처음 시료로 사용한 플라타너스나무 (*Platanus acerifolia* Willd.)의 줄기 껍질추출물의 *in vitro* cytotoxicity에 비하여 약 40배 정도 탁월한

세포증식저해효과를 보여주는 활성성분물질 3종을 순수 분리하여 현재 그 화학구조를 규명 중에 있으며 아울러 이 활성성분 이외 기타 활성물질들을 추적분리 중에 있다.

### 3. 항바이러스 약효평가

우리 나라 수목자원들에 대한 항바이러스 약효를 평가하였다. 모든 시료에 대하여 Vero세포체계에서 HSV-1과 HSV-2에 대한 *in vitro* 항바이러스효과와 시료자체의 세포에 대한 독성을 CPE저해법을 이용하여 함께 조사하였다. 또한 AIDS치료제 개발 후보물질 발견을 위하여 항HIV약효검색을 수행하였으며, 다른 광범위 효과를 관찰하기 위하여 HeLa 세포체계에서 RNA virus 인 PV-1, CoxB3와 VSV에 대한 약효검색도 CPE저해법을 이용하여 수행되었다. 아직 특정 바이러스에 대하여 뚜렷한 약효를 나타내는 것은 아직 발견되지 않았다. 시료들 중에서 비교적 항 HSV약효를 나타냈던 시료들에 대한 재확인 실험을 실시하였다. 약효를 나타내는 농도가 꽤 높지만, 그래도 YK96069, YK96077, YK97047, YK97058, YK97076 은 분리정제를 더 해보아 EC<sub>50</sub>값을 낮추어 selectivity index가 증가하는지를 조사해볼 가치가 있지 않을까 여겨진다.

또한, 항HIV를 조금이라도 나타낸 시료들 중 YK97016 도 분리정제를 더 해볼 가치가 있지 않을까 사료된다. 일반적으로 수목추출성분의 시료는 독성이 있다가 사라지는 농도에서까지 항바이러스 약효를 나타내는 시료 수가 초본 시료에 비해서 많으며, 특히 HSV에서 더욱 뚜렷한 효과를 보이고 있다. 이런 시료의 약효는 더 계속할 가치가 높지 않지만, 풀과 다른 나무시료에서 공통적으로 발견할 수 있는 물질일 수도 있기 때문에, 기초 연구로서 연구할 가치가 있지 않을까 생각된다.

최종결론은 위에 명시한 시료들에 대하여 항바이러스 효과여부를 좀 더 조사하여 개발가치 여부를 확인하여야 할 것으로 판단된다.

### B. 활용에 대한 건의

본 연구는 한국산 수목 181종에 대한 항암, 항혈액응고, 그리고 항바이러스에 대한 효과를 검정하고, 이들로부터 유효성분을 단리하기 위하여 실시되었다. 지금까지의 연구를 활용하기 위한 방안을 요약하면 다음과 같다.

1. 항암활성 검정자료를 근거로 유효성분의 분리연구분야,
2. 항혈액응고인자 검색에서 B급, C급, 그리고 D급으로 분류된 추출성분에서 유효성분의 분리,
3. 항바이러스 약효검색에서 어느 정도 활성을 나타내는 YK96069, YK96077, YK97016, YK97047, YK97058, 그리고 YK97076에서 유효성분의 분리와 마지막으로
4. 본 연구를 통하여 특정수목에 다량 함유되어 있는 것으로 밝혀진 고가의 betulinic acid, ursolic acid, 그리고 lignan 류나 alkaloid 류의 생산기술연구를 통한 산업화방안 등에 활용할 수 있을 것으로 기대된다.

## Summary

### I. Title

Identification of Bioactive components from Korean Woody Plants and Their Bioactivity Data Base

### II. The Purpose of the Research and its Importance

All plant forms including the woody plants is the ultimate natural source for most of the resources that are needed for the maintenance of the life of humans. These are not only utilized as the important food source but for timber, rubber, fuel and others that are vastly varied and diverse.

Plants give many benefits to humans but one of the most important things is that we can find the most of the treatment to the human diseases and illnesses from these plants.

To clarify a little further, the medicine that is used to treat or immunize against all disease are in majority of cases comprised of the native components that are from the plants or are the derived from the plants which closely resembles the original structure. Therefore, it is not an overstatement to classify the plants as the medicinal storage and to state that all the medicines are derived from the plants.

If we systematically screen the woody plants in Korea at this time for their biological activity, we can undoubtedly identify some excellent resources for use as basis for medicinal purposes.

At this time, Korea's woody plants are used for the wood products or for esthetic functions and the use in other forms are very limited. The reason for that is because the systematic scientific medicinal value research was

nonexistent or at best, not sufficient. Therefore, we need to systematically screen bioactivities for Korea's woody plants and pursue development of active substances. The resultant data can also be utilized for the basic data in the future pharmacological activity screening system. Also, the woody plants that show good bioactivity should be intensively studied even further to assess the medicinal values.

Due to the protectionism of the individual country's resources and intellectual right treaty, the importing of the foreign resources are continually getting more difficult. In addition, there is an enormous royalty that is required. It is, therefore, imperative that we resolve these issues by developing products of our country.

If the research for the development of bioactive compounds of the Korea's woody plant is further activated by using the result of this study, we would partake in the worldwide effort in the medicinal development which would bring the great benefit to the many patients. As stated previously, increasing the functional value and the usage of the various woody plant types will increase the per capita income to farmers as well as get a scientific technical benefit termed as the new medicine development. These benefits will greatly further and instigate the knowledge in the field of medicinal chemistry, forestry, and other related fields.

The purpose of the research development and its significance of various fields will be discussed separately in each section.

### III. Scope and Contents

#### A. Scope

The Korean woody plant extracts are screened for bioactivity and based upon the bioactivity, corresponding bioactive compounds are separated, purified

for the identification of the chemical structure.

#### B. Contents

The woody plants (181 species) from Korea were collected, dried, cut into small pieces, extracted by MeOH and concentrated. These crude extracts from the various wood were screened for the tissue factor inhibitory, anticancer, and antiviral activity. The ones that showed the aforementioned activity were collected in volume and the biologically active components were separated and purified. The research development methodology and the research content are separated by sections and recorded in detail in each of its corresponding sections. The table of species subjected to research is in Table 1 and each of the woody plants were coded for the bioactivity screening. The bioactivity screening result is in an Appendix followed by the Conclusion section of the Chapter 5.

### IV. Result and Comments

#### A. Result

For the Korea's woody plants (181 species) and 202 samples of the extract bioactivities were tested or screened. MeOH extracts were examined for the tissue factor inhibitory activity and bioactivity was shown in appendix and classified as: 2 species in class A, 23 species in class B, 37 species in class C and 14 species in class D.

Most did not show the antiviral activity but though weak, YK96069, YK96077, YK97016, YK97047, YK97058, and YK97076 showed some activity.

Most showed anticancer activity that strongly inhibits the tumor cell growth. Therefore, the continual research is required to develop the appropriate bioactive substances.

The cytotoxic components from stem bark of *Magnolia obovata* research result was announced at the 1997 The Korean Society of Wood Science & Technology, 1997

Korean Pharmaceutical society and was published in the SCI journal "Planta Medica" Planta Medica 65, 291-292 (1999) from Germany, and the results for cytotoxic components from MeOH extract of stem bark of *Physocarpus intermedius* was announced at the 1998 The Korean Society of Wood Science & Technology, 1998 Korean Pharmaceutical society and was submitted to SCI journal "Planta Medica" which was approved for publication.

Also, the Ras-farnesyl transferase inhibitory component from stem bark of *Magnolia sieboldii* is also being reviewed for submission.

Also, the simple method for obtaining betulinic acid and ursolic acid from the plant resource *Stephanandra incisa* Thunb. and *Platanus acerifolia* Willd in volume is developed thus the plant types that were previously used as the utility poles or miscellaneous wood products are now important product with elevated alternate value. The technology that made this possible had been submitted for patent (Application number:10-1999-0033000, Title: Separation and Purification System of Phytochemicals by mild-temperature extraction vessel and vacuum Chromatography), (Application number:10-1999-0038466, Title: The production-technique of betulinic acid from *Platanus orientalis* L.).

#### 1. Research for the Tissue factor Inhibitory Activity

a. In order to develop anticoagulation active components of the Korean woody plants, the tissue factor inhibitory activity measurement was employed. Tissue factor exists in the blood cell within the blood vessels and upon trauma to the vessel, it is brought into the blood fluid and it initiates blood coagulation.

b. The 202 samples of Korean woody plant were examined for TF inhibitory activity and it had been valued at 1 unit per 50% inhibitory activity ( $IC_{50}$ /TF unit) When inhibitory activity ( $IC_{50}$ /TF unit) showed below  $0.1\mu\text{g}$ , between  $0.1$  and  $1\mu\text{g}$ , between  $1$  and  $10\mu\text{g}$ , between  $10$  and  $100\mu\text{g}$  they were sorted as A, B, C, and D class, respectively. The result was that 2 species in class A, 23 species in class B, 37 species in class C and 14 species in class D.

c. In order to separate the active component, first, solvent fractionation was carried out for the Class A 2 species but activity did not infuse into the organic solvent layer but stated in the aqueous layer. The active component in the aqueous layer maybe tannin or polyphenolic components or a material that is easily rendered inactive by the oxygen in the air.

d. The 16 species of plants that is prolific in collection has been solvent fractionalized and from the organic solvent layer that has activity, TF Inhibitory compound I (IC<sub>50</sub>/TF unit, 0.078 $\mu$ g) from YK96084 had been separated. The chemical structure analysis showed that it is 2-(ethylamino) ethanol.

## 2. Screening of antitumor activity and the Isolation of Active Compounds

a. The separation of active components from *Magnolia obovata* stem bark extract, which shows a strong anticancer properties, have been attempted. The A549 and other 4types of human tumor cell line was examined *in vitro* for tumor cell growth inhibitory activity using tumor cell growth inhibition with index (SRB) and activity-guided fractionation to search for active components. Magnolol and other active compounds (6 substances) which has anticancer activity of 100 times greater than the *Magnolia obovata* stem bark extract have been separated.

b. *Physocarpus intermedius* stem bark extract was also pursued in same method for active substances and 7 components which has anticancer activity of 100 times greater than the *Physocarpus intermedius* stem bark extract have been separated and their chemical structures were determined.

c. For *Magnolia sieboldii*, in addition to the evaluation method using human tumor cell line *in vitro* cell growth inhibition with index (SRB) which our research team commonly used, we employed the newly formed Ras farnesyltransferase anticancer evaluation method using inhibitive activity index. The active compound which was separated through the activity-guided fractionation showed about 100 times stronger activity in comparison to

*Magnolia sieboldii* stem bark extract. Its chemical structure was elucidated. Other active ingredients are also being pursued.

d. Another resource is *Stephanandra incisa* Thunb's stem bark extract which has active substances *i.e.* anticancer material. This material had been subjected to column chromatography and two active components had been separated which has about 50 times the anticancer effect of the *Stephanandra incisa* Thunb. stem bark extract. Other miscellaneous active components are also being separated.

e. Other sample of *Platanus acerifolia* Willd stem bark extract was pursued for active components *via* activity-guided fractionation, and three active substances had been separated which has approximately 40 times more effective cell proliferation inhibition *in vitro* cytotoxicity. We are currently analyzing its chemical structure and other miscellaneous active substances are being separated.

### 3. Screening and Evaluation of Antiviral activity

Korea's woody plants' antiviral activity was evaluated. All samples were examined in Vero cell system *in vitro* and cells were infected with HSV-1 and HSV-2 and measured the sample's cell toxicity using CPE inhibition method. In search of treatment for AIDS, anti-HIV effectiveness was searched and pharmacological effectiveness and other utility were also searched in HeLa cell system by examining RNA virus, PV-1, CoxB3 and VSV using CPE inhibition method. No clear biological effectiveness is found in regards to the specific virus. The retesting of the active ingredients that showed comparative HSV effectiveness was done for reverification. The concentration of the biological effectiveness is high but YK96069, YK96077, YK97047, YK97058, YK97076 should be separated for further purification and value of EC<sub>50</sub> should be lowered to see if selectivity index increases.

Also, for the samples that showed even remote effectiveness toward anti-HIV, it is deemed worthwhile to further purify the sample. Generally, the woody plant extract sample has a higher concentration of showing the biological activity from the level where it shows toxicity to where it disappears in comparison to other herbal samples and HSV particularly manifests this point.

These samples do not seem of value to continue further research but grass and other wood may have similar common material so it may be valuable to have as a basic research data. For final conclusion, the discussed samples should be more evaluated for further development

#### B. Comment for future Application

This research is to evaluate Korean woody plants (181 species) in regards to anticancer, anticoagulation and antiviral activities. The suggestion for the utilization of the results of this research is as follows:

1. Using anticancer screening data as a basis, isolation research area for anticancer active substances
2. Separation of the effective components from Class B, C and D extracts that had been found to have anticoagulating properties
3. Effective component separation from YK96069, YK96077, YK97016, YK97047, YK97058, and YK97076 which had been found to have biological effectiveness in antiviral properties
4. This research can be used for industrialization or mass production research of the expensive betulinic acid, ursolic acid, and lignan or alkaloid which is rich in particular woody plant.

## CONTENTS

Chapter 1 Introduction .....	21
I. Objectives and Significances .....	22
II. Scope and Contents .....	23
1. Scope .....	23
2. Contents .....	23
Chapter 2 Research for the Tissue factor Inhibitory Activity .....	27
I. Introduction .....	27
II. Materials and Methods .....	29
1. Tissue factor inhibitory activity screening method .....	29
2. Measurement for the Tissue factor activity .....	29
3. Screening of Tissue factor inhibitory activity .....	30
III. Results and Investigation .....	31
1. Screening of Tissue factor inhibitory activity .....	31
2. Separation of Tissue factor inhibitory compounds .....	36
IV. References .....	48
Chapter 3 Screening of antitumor activity and Isolation of Active compounds	54
I. Introduction .....	54
II. Materials and Methods .....	55
1. SRB method .....	55
2. Ras farnesyltransferase (FPTase) inhibition in vitro (Farnesyl- transferase [ <sup>3</sup> H]SPA enzyme assay) .....	57
III. Results and Investigation .....	58
1. Isolation of <i>in vitro</i> cytotoxic components from the methanol extract of the stem bark of <i>Magnolia obovata</i> .....	58

2. Isolation of <i>in vitro</i> cytotoxic componets from the methanol extract of the stem bark of <i>Physocarpus intermedius</i> .....	64
3. Isolation of <i>in vitro</i> cytotoxic componets from the methanol extract of the stem bark of <i>Magnolia sieboldii</i> .....	68
4. Isolation of <i>in vitro</i> cytotoxic componets from the methanol extract of the stem bark of <i>Stephanandra incisa</i> Thunb. ....	69
5. Isolation of <i>in vitro</i> cytotoxic componets from the methanol extract of the stem bark of <i>Platanus acerifolia</i> Willd. ....	73
IV. References .....	76
 Chapter 4 Screening and Evaluation of Antiviral activity .....	 78
I. Introduction .....	78
II. Materials and Methods .....	80
1. Materials .....	80
2. Methods .....	81
III. Results and Investigation .....	85
1. Screening of anti-herpes simplex virus .....	85
2. Screening of anti-human immunodeficiency virus .....	86
3. Screening of anti-RNA virus .....	87
IV. References .....	89
 Chapter 5 Conclusion and Comment for future application .....	 91
I. Conclusion .....	91
1. Research for the Tissue factor Inhibitory Activity .....	92
2. Screening of antitumor activity and Isolation of Active compounds ...	92
3. Screening and Evaluation of Antiviral activity .....	94
II. Comment for future application .....	94
Appendix .....	96

## 목 차

제 1 장 서 론 .....	21
제 1 절 연구개발의 목적 및 중요성 .....	22
제 2 절 연구개발의 목표 및 내용 .....	23
1. 연구개발의 목표 .....	23
2. 연구개발의 내용 .....	23
제 2 장 항혈액응고물질 개발연구 .....	27
제 1 절 서 설 .....	27
제 2 절 재료 및 방법 .....	29
1. 조직인자 저해작용 검색 방법 .....	29
2. 조직인자 활성 측정 .....	29
3. 조직인자 저해작용의 검색 .....	31
제 3 절 결과 및 고찰 .....	31
1. 조직인자 저해작용 검색 .....	31
2. 항혈액응고 물질의 분리 .....	36
제 4 절 참고문헌 .....	48
제 3 장 항암활성 효과검정 및 물질 .....	54
제 1 절 서 설 .....	54
제 2 절 재료 및 방법 .....	55
1. SRB method .....	55
2. Ras farnesyltransferase (FPTase) inhibition <i>in vitro</i> (Farnesyl-transferase [ <sup>3</sup> H]SPA enzyme assay) .....	57
제 3 절 결과 및 고찰 .....	58
1. 일본목련( <i>Magnolia obovata</i> )의 줄기껍질의 MeOH추출물로부터 항암성분의 분리 .....	58

2. 증산수국나무( <i>Physocarpus intermedius</i> )의 줄기껍질추출물로부터 항암성분의 분리 .....	64
3. 함박꽃나무 ( <i>Magnolia sieboldii</i> )의 줄기껍질추출물로부터 항암활성물질의 분리 .....	68
4. 국수나무 ( <i>Stephanandra incisa</i> Thunb.)의 줄기껍질추출물로부터 항암성분의 분리 .....	69
5. 플라타너스나무( <i>Platanus acerifolia</i> Willd.) 줄기껍질추출물로부터 항암활성물질의 분리 .....	73
제 4 절 참고문헌 .....	76
제 4 장 항바이러스 약효평가 .....	78
제 1 절 서 설 .....	78
제 2 절 재료 및 방법 .....	80
1. 재 료 .....	80
2. 실험방법 .....	81
제 3 절 결과 및 고찰 .....	85
1. 항 herpes simplex virus 약효검색 .....	86
2. 항 human immunodeficiency virus 약효검색 .....	86
3. 항 RNA virus .....	87
제 4 절 참고문헌 .....	89
제 5 장 결론 및 활용에 대한 건의 .....	91
제 1 절 결 론 .....	91
1. 항혈액응고물질 개발연구 .....	92
2. 항암활성 효과검정 및 물질개발 .....	92
3. 항바이러스 약효평가 .....	94
제 2 절 활용에 대한 건의 .....	94
부록(Appendix) .....	96

## 제 1 장 서 론

서방선진국을 비롯하여 일본과 여러 아시아 국가에서는 신의약품개발에 대한 가능성이 높은 천연자원으로부터 생리활성 물질을 찾아내고자 하는 연구가 매우 활발하게 진행되고 있다. 또한 현재 가장 잘 팔리는 세계의 25대 의약품 중 약 절반인 12종의 상품이 천연자원에서 유래한 것을 볼 때 천연자원이 인류 건강을 위해 크게 기여하고 있으며 앞으로는 보다 과학적이고 체계적인 연구방법의 개발로 천연자원에서 상당수의 새로운 의약품이 이로부터 개발될 것으로 기대하고 있다.

성공적인 의약품 개발을 수행하기 위하여 외국에서는 이미 상당수의 생리활성 검정법을 실험실에 설치하여 활성 물질을 검색하고 있으며 그 검색 대상 천연 물질은 세계 여러 지역의 육상, 해상의 크고 작은 동식물을 대상으로 신물질 신의약품의 개발에 연구를 하고 있다. 또한 고도의 첨단 장비를 동원하여 이전에는 알 수 없거나 장시간의 노력과 시간을 필요로 하던 천연물질의 화학구조도 손쉽게 규명하고 있다.

국내에서도 세계적인 추세와 여건에 발맞추어 천연자원으로부터 생리 활성 물질을 찾아 의약품으로서 개발하고자 하는 연구가 최근 10년 사이 매우 급증하여 여러 연구 기관에서 매우 활발히 진행되고 있다. 이러한 연구의 대상자원으로는 주로 국내의 자생 초본류, 한약의 원료로 쓰이는 생약류, 미생물, 그리고 인간이 섭취 가능한 동식물성 재료가 주요대상 자원이나, 산야에 자생 혹은 재배되고 있는 수목자원은 대부분의 경우 가구재, 건축재 등 주로 목재로서 그 활용 범위가 제한되어 있는 실정이며 간혹 이들 수목의 특정 부위들이 의약품으로서 사용되어지는 예가 있으나 이와 같은 경우는 극히 제한적인 실정이다. 또, 그 유효 성분이 제대로 알려지지 못한 이유로 현재는 단지 한약재의 원료로 사용되어지고 있는 실정이다.

만약 이들 수목들의 함유 성분이 어떠한 생리활성을 나타낸다는 과학적인 검증이 이루어진다면 이들은 단순한 목재로서의 가치 이상의 의약품으로서 개발될 수 있고, 차후 이들 수목 자원의 대량 재배 등을 통하여 임농가의 소득 증대에도 큰 몫을 할 수 있으리라 기대된다.

연구는 국내에서 비교적 널리 분포하고 있는 채집 가능한 180여 수목을 대상으로

그들 함유 성분에 대한 생리 활성 효과를 검정하고, 생리활성을 나타내는 조추출물에서 순수한 생리 활성 물질을 단리 하여 그 화학 구조를 밝히고, 각 수목의 생리활성 효과검정에 대한 자료를 체계적으로 얻고자, 세부적으로 항암·항virus·항혈관계 질환치료를 위한 항혈액응고 물질 개발 분야를 중점적으로 다루었다.

## 제 1 절 연구개발의 목적 및 중요성

수목을 포함한 각종 식물들은 인류가 생명 현상을 유지하기 위하여 활용하고 있는 거의 대부분의 자원들을 공급하여 주고 있는 최대의 천연 보고라고 할 수 있다. 이들은 우선 인간이 삶을 유지하기 위한 귀중한 식품으로서 이용되어지고 있을 뿐만 아니라 목재, 고무 및 화석 연료 등 이루 말할 수 없이 다양한 형태로서 광범위하게 사용되어지고 있다.

식물들이 우리 인류에게 주고 있는 수많은 혜택 중에서 결코 간과하여서는 아니 될 부분은 인간이 살아가면서 직면하게 되는 각종 질병들에 대한 해결책의 대부분이 식물들 속에 숨겨져 있다는 사실이다.

다시 말하자면 오늘날 모든 질병의 예방 및 치료에 사용되고 있는 각종 의약품들의 기원을 살펴보면 상당수가 식물체에 함유되어 있는 고유 성분들이거나, 혹은 이것을 기초로 하여 모방된 유사 화합물들이라는 사실이다. 따라서 식물은 모든 의약품의 창고이고 모든 의약품은 바로 식물에서 유래한다고 하여도 결코 지나친 말이 아니다. 현재 우리 나라에서 자생 혹은 재배되어지고 있는 수목들에 대하여서도 체계적으로 여러 가지 약리 활성들을 검정하여 본다면 그 중에는 틀림없이 훌륭한 의약품의 자원이 될 수 있는 수종들이 있다.

실제로 우리 나라에 자생하고 있는 수목들의 대부분의 경우 목재 혹은 관상용 이상의 가치를 가지고 있는 경우는 극히 일부에 지나지 않고 있다. 그 이유는 결론적으로 이들 수목들에 대한 체계적이고 과학적인 약리 활성 연구가 미진 혹은 전무하였던 결과에 기인한다고도 말할 수 있겠다. 따라서 국내산 수목에 대한 체계적인 생리 활성 효과를 검정하고 그 검정 결과 자료를 전산화하여 차후에 행하게 될 기타 약리활

성 검정 등에도 활용할 수 있도록 하여야 할 필요가 있다. 아울러 우수한 생리 효과를 나타내는 수종에 대하여서는 집중적인 연구를 통하여 그 활성 성분에 대한 의약품으로서의 활용 가치를 정립하여야 할 것이다.

세계 각국의 자국 자원에 대한 보호주의의 확산과 지적 재산권 협약 등으로 외국 자원을 유입하기가 점차 어려워지고 있으며, 수입에 대한 막대한 사용료(royalty)를 지불해야 하므로 이에 대처하기 위한 자국의 능동적인 제품 개발이 필요하다.

본 연구를 기초로 국내 수목으로부터의 생리 활성 물질 개발 연구들이 활성화되어 진다면 의약품 개발에 대한 세계적인 추세에 동참하게 되고, 치료 효과가 좋은 약제가 개발되면 수많은 환자들에게 큰 도움이 될 것이다. 전술한 바와 같이 수종의 활용 가치를 높여 임농가의 소득 증대에도 큰 몫을 하여줄 수 있을 뿐더러 우리 수목 자원에서부터 새로운 의약품의 개발이라는 보다 큰 과학 기술적 성과를 얻을 수 있다. 이러한 성과들이 각종 의약품 화학 혹은 임학 관련 학문에 파생시킬 수 있는 부수 효과는 이루 말할 수 없이 커져 나갈 수 있으리라 기대한다.

세부분야별 연구개발목적 및 그 중요성은 각 장에서 구체적으로 논하기로 한다.

## 제 2 절 연구개발의 목표 및 내용

### 1. 연구개발의 목표

한국산 수목의 추출물을 대상으로 생리활성을 검정하고 생리활성을 토대로 이들 수목으로부터 생리활성 성분을 분리·정제하여 화학구조를 밝히고자 한다.

### 2. 연구개발의 내용

다음의 한국산 수목 181종을 채집하여 건조 후 잘게 부순 후, MeOH로 추출하여 농축한 후, 이들 각 수목의 조추출물을 대상으로 항혈액응고효과, 항암효과 및 항바이러스효과등을 검정하고 이 중 활성을 나타내는 수목의 경우 대량 추출하여 이들로부터 생리활성 유효성분을 분리·정제하는 연구를 하였다. 연구개발 방법과 연구내용은

세부분야별로 각 장에 상세히 기록하였다. 본 연구의 대상 수목의 목록은 다음 쪽의 Table 1과 같으며, 이들 수목을 code화하여 각각의 생리활성을 검정하였다. 이들 각 수목의 추출물에 대한 생리활성 검정결과는 부록에 제시하였으며, 이러한 검정 결과는 이들 수목의 생리활성물질을 연구하는 기초자료로 사용하였으며 계속해서 이들 수목을 연구하는데 중요한 자료로 사용될 것이다.

Table 1 생리활성 검정 대상 수목

가래 ( <i>Juglans mandshurica</i> Maxim.)	가문비 ( <i>Picea jezoensis</i> Carr.)
가시오갈피 ( <i>Acanthopanax senticosus</i> )	가중나무 ( <i>Ailanthus altissima</i> Swingle)
갈매나무 ( <i>Rhamnus davurica</i> )	갈참나무 ( <i>Quercus aliena</i> Blume)
개나리 ( <i>Forsythia koreana</i> Nakai)	개비자나무 ( <i>Cephalotaxus koreana</i> )
개암나무 ( <i>Corylus heterophylla</i> var. <i>thunbergii</i> )	개오동나무 ( <i>Catalpa ovata</i> G. Don)
개웃나무 ( <i>Rhus trichocarpa</i> )	개잎갈나무 ( <i>Cedrus deodara</i> (Roxb) Loudon)
개회나무 ( <i>Suringa reticulata</i> var. <i>mandshurica</i> )	갯버들 ( <i>Salix gracilistyla</i> )
겨우살이 ( <i>Viscum album</i> L. var. <i>coloratum</i> Komar.)	계수나무 ( <i>Cercidiphyllum japonica</i> Sieb. et Zucc.)
고광 ( <i>Philadelphus schrenckii</i> Rupr.)	고로쇠나무 ( <i>Acer mono.</i> Maxim.)
고추나무 ( <i>Staphylea bumalda</i> DC.)	골담초 ( <i>Caragana sinica</i> )
광대싸리 ( <i>Securinega suffruticosa</i> Rehder)	구상나무 ( <i>Abies koreana</i> Wils)
국수나무 ( <i>Stephanandra incisa</i> Zabel)	굴참나무 ( <i>Quercus variabilis</i> Bl.)
귀룽나무 ( <i>Prunus padus</i> )	귀중나무 ( <i>Prunus padus</i> )
금솔 ( <i>Pinus thunbergii</i> Parl.)	금송나무 ( <i>Sciadopitys verticillata</i> S. et Z.)
까치박달 ( <i>Carpinus cordata</i> Blume)	꼬리겨우살이 ( <i>Loranthus ranakae</i> Fr. et Sav.)
꼬리겨우살이-(속주:자작나무) ( <i>Loranthus ranakae</i> )	꼬리겨우살이-(속주:까치박달)-열매만 ( <i>L. ranakae</i> )
나래회(빛살) ( <i>Euonymus macropterus</i> )	나한송 ( <i>Podocarpus macrophyllus</i> var. <i>maki</i> Sieb.)
남천 ( <i>Mahonia beaiei</i> Carr.)	내군도단풍 ( <i>Acer negundo</i> L.)
노간주나무 ( <i>Juniperus rigida</i> Sieb. et Zucc.)	노박명굴 ( <i>Celastrus orbiculatus</i> Thunb.)
누리장나무 ( <i>Clerodendron trichotomum</i> )	눈잣나무 ( <i>Pinus pumila</i> Regel)
눈향나무 ( <i>Juniperus chinensis</i> var. <i>sargentii</i> Henr)	느릅나무 ( <i>Ulmus davidiana</i> var. <i>japonica</i> Nakai)
노티나무 ( <i>Zeliova serrata</i> Makino)	다래나무 ( <i>Actinidia arguta</i> )
다나무 ( <i>Broussonetia kazinoki</i> )	담쟁이명굴 ( <i>Parthenocissus tricuspidata</i> Planch.)
당단풍 ( <i>Acer pseudo-sieboldianum</i> var. <i>koreanum</i> Nakai)	당매자 ( <i>Berberis poiratii</i> Schneid)
덩강나무 ( <i>Abelia mosanensis</i> )	더위지기 ( <i>Artemisia iwauomogi</i> )
두릅나무 ( <i>Aralia elata</i> Seem.)	두충나무 ( <i>Ecommia ulmoides</i> Oliver)
둥근향나무 ( <i>Juniperus chinensis</i> var. <i>globosa</i> Hornibr.)	둥나무 ( <i>Wisteria floribunda</i> A.P.DC.)
떡충나무 ( <i>Sambucus williamsii</i> var. <i>coreana</i> )	때죽나무 ( <i>Styrax japonica</i> )
떡갈나무 ( <i>Quercus dentata</i> Thunb.)	뿔향나무 ( <i>Juniperus chinensis</i> var. <i>horizontalis</i> Nakai)

들보리수 (*Elaeagnus multiflora*)  
 리기테어다 (*Pinus rigida* Gaertn.)  
 말채나무 (*Cornus walteri*)  
 매화나무 (*Prunus mume*)  
 목련 (*Magnolia kobus* A.P. DC.)  
 물푸레나무 (*Faxinus rhynchophylla*)  
 미선나무 (*Abeliophyllum distichum*)  
 박태기 (*Cercis chinensis* Bunge)  
 밤나무 (*Castanea crenata* Sieb. et Zucc.)  
 배롱나무 (*Lagerstroemia indica* L.)  
 백송 (*Pinus bungeana* Zucc.)  
 버즘나무 (*Platanus orientalis* L.)  
 병꽃나무 (*Weigela subsessilis*)  
 보리수나무 (*Elaeagnus nabelata*)  
 복자기나무 (*Acer triflorum* Kom.)  
 분비나무 (*Abies nephrolepis*)  
 붉은가시딸기 (*Rubus phoenicolasius* Maxim.)  
 비자나무 (*Torreya nucifera* Sieb. et Zucc.)  
 사시나무 (*Populus davidiana* Dode.)  
 사철나무 (*Euonymus japonica*)  
 산겨릅나무 (*Acer tegmentosum* Max.)  
 산밤나무 (*Castanea crenata* for. *kusakuri* Nakai)  
 산사나무 (*Crataegus pinnatifida* Bunge)  
 산초나무 (*Zanthoxylum schinifolium* Sieb. et Zucc.)  
 생강나무 (*Lindra obtusiloba* Bl.)  
 섬고광나무 (*Philadelphus scaber* Nakai)  
 섬오갈피 (*Acanthopanax Koreanum*)  
 소태나무 (*Picrasma quassioides*)  
 솔송 (*Tsuga sieboldii* Carr.)  
 시무나무 (*Hemiptelea davidii* Planch.)  
 신나무 (*Acer ginnala* Maxim.)  
 아까시나무 (*Robinia pseudo-acacia*)  
 영도나무 (*Prunus tomentosa* Thunb.)  
 어성초 (*Houttuynia cordata*)  
 연기나무 (*Continus coggryia* Scop.)  
 오동나무 (*Paulownia tomentosa*)  
 옷나무 (*Rhus verniciflua*)  
 왕매발톱 (*Berberis amurensis* var. *latifolia* Nakai)  
 으름덩굴 (*Akalia quinata* Decne.)  
 이나무 (*Idesia polycarpa*)  
 일본목련 (*Magnolia obovata* Thunb.)

리기다소나무 (*Pinus ridida* Mill.)  
 마가목 (*Sorbus commixta* Hedi.)  
 매자나무 (*Berberis koreana* Dalibin)  
 메타세쿼이아 (*Metasequoia glyptostroboides*)  
 무궁화 (*Hibiscus syriacus* L.)  
 미국측백 (*Thuja occidentalis* L.)  
 박취나무 (*Alangium platanifolium* var. *macrophyllum*)  
 반송 (*Pinus densiflora* for. *multicaulis* Uyeki)  
 방크스소나무 (*Pinus banksiana* Lambert)  
 백당나무 (*Viburnum sargentii* Koehne)  
 버드나무 (*Salix koreensis* Anderss.)  
 벗나무 (*Prunus serrulata* var. *spontanea*)  
 병꽃나무 (*Weigela subsessilis*)  
 복사나무 (*Prunus persica* Batsch)  
 부계꽃나무 (*Acer ukurunduensi* Trautv. et Meyer)  
 붉나무 (*Rhus chinensis* Mill.)  
 비슬나무 (*Ulmus pumila* L.)  
 뽕나무 (*Morus bombycis* Koidz.)  
 사위질방 (*Clematis apiifolia* A.P. DC.)  
 산개벗지 (*Prunus maximowiczii* Rupr.)  
 산딸나무 (*Cornus kousa* Buerger)  
 산뽕나무 (*Morus bombycis*)  
 산수유 (*Cornus officinalis* Sieb. et Zucc.)  
 삼나무 (*Cryptomeria japonica* (L. fil.) D. Don)  
 서어나무 (*Carpinus laxiflora* Blume)  
 섬매발톱 (*Berberis amurensis* var. *quelpaertensis* Nakai)  
 섬잣나무 (*Pinus parviflora* Sieb. et Zucc.)  
 속새나무 (*Equisetum hyemale* L.)  
 스트로브잣나무 (*Pinus strobus* L.)  
 신갈나무 (*Quercus mongolica*)  
 실화백 (*Chamaecyparis pisifera* var. *filifera* B. et H.)  
 아라오키아 (*Araucaria araucana* K. Koch)  
 야광나무 (*Malus baccata*)  
 엄나무 (*Kalopanax pictum* (Thunb.) Nakai)  
 오갈피나무 (*Acanthopanax sessiliflorum*)  
 오미자나무 (*Schizandra chinensis* Baill.)  
 왕고광나무 (*Philadelphus scaber* var. *mandshuricus* Maxim)  
 윤노리 (*Pourthiaea villosa*)  
 은행나무 (*Ginkgo biloba* L.)  
 인동덩굴 (*Lonicera japonica*)  
 일본잎갈 (*Larix leptolepis* (S. et Z.) Gorden.)

있갈나무 ( <i>Larix gmelini</i> var. <i>principisruprechtii</i> )	자귀나무 ( <i>Albizia julibrissin</i> Durazz)
작작나무 ( <i>Betula platyphylla</i> var. <i>japonica</i> Hara)	작살나무 ( <i>Callicarpa japonica</i> )
잣나무 ( <i>Pinus koraiensis</i> Sieb. et Zucc.)	전나무 ( <i>Abies holophylla</i> )
조팝나무 ( <i>Spiraea prunifolia</i> var. <i>simpliciflora</i> )	종비나무 ( <i>Picea koraiensis</i> Nakai)
주목 ( <i>Taxus cuspidata</i> Sieb. et Zucc.)	주엽나무 ( <i>Gleditsia japonica</i> var. <i>koraiensis</i> N.)
중국굴피 ( <i>Pterocarya stenoptera</i> DC.)	중산국수나무 ( <i>Physocarpus intermedius</i> Schneid.)
취풍나무 ( <i>Ligustrum obtusifolium</i> Sieb. et Zucc.)	진달래 ( <i>Rhododendron mucronulatum</i> )
쪽동백 ( <i>Styrax obassia</i> Sieb. et Zucc.)	쪽제비싸리 ( <i>Amorpha fruticosa</i> L.)
필레나무 ( <i>Rosa multiflora</i> )	찰피나무 ( <i>Tilia mandshurica</i> Rupr. et Maxim)
참느릅나무 ( <i>Ulmus parvifolia</i> )	참빛살나무 ( <i>Euonymus sieboldiana</i> )
참싸리 ( <i>Lespedeza cyrtobotrya</i> )	철쭉나무 ( <i>Rhododendron mucronulatum</i> )
청가시덩굴 ( <i>Smilax sieboldii</i> )	청미래덩굴 ( <i>Saillax china</i> )
층층나무 ( <i>Cornus controversa</i> Hemsel.)	칠엽수 ( <i>Aesculus turbinata</i> Bl.)
썬 ( <i>Pueraria lobata</i> (Wild.) Ohwi)	류림나무 ( <i>Liriodendron tulipifera</i> L.)
면백 ( <i>Chamaecyparis obtusa</i> Sieb. et Zucc.)	풍개나무 ( <i>Celtis cordifolia</i> )
풍계나무 ( <i>Celtis jessoensis</i> Koidz)	풍겐스가문비 ( <i>Pinus Pungens</i> Lambert)
풍년화 ( <i>Hammamelis japonica</i> )	합박꽃나무 ( <i>Mognolia sieboldii</i> )
향선나무 ( <i>Fontanesia phyllyreoides</i> )	헛개나무 ( <i>Hovenia dulcis</i> )
화백 ( <i>Chamaecyparis pisifera</i> (Sieb. et Zucc.) Endl.)	화살나무 ( <i>Euonymus alatus</i> (Thunb.) Sieb.)
황금매자 ( <i>Berberis julianae</i> Sch.)	황벽나무 ( <i>Phellodendron amurense</i> Rupr.)
황철나무 ( <i>Populus maximowiczii</i> )	

## 제 2 장 항혈액응고물질 개발연구

### 제 1 절 서 설

Tissue thromboplastin은 혈관 내피세포에 주로 존재하는 단백질로서 tissue factor (TF) 또는 coagulation factor III 라고도 부르며 이제까지 혈액응고계의 내인계 및 외인계 경로 중에서 외인계 만을 개시하는 인자로 알려져 있었다<sup>1-3)</sup>. TF는 factor VII(FVII)의 cofactor로서 작용하여 FVII을 FVII<sub>a</sub>로 활성화시키고 FVII<sub>a</sub>는 Ca<sup>2+</sup> 존재 하에서 TF와 complex를 형성하여 FX을 FX<sub>a</sub>로 활성화시킴으로서 외인계 경로를 개시한다. 최근 TF는 내인계 인자인 FIX도 활성화시킨다는 사실이 알려지게 되어 결국 TF는 내인계와 외인계에 모두 작용하여 혈액응고계를 활성화시키는데 주된 역할을 하는 단백질로 알려지게 되었다<sup>4-6)</sup>.

TF는 당 단백질로서 phospholipid와 결합되어 있어야 생리 활성을 나타내므로 순수 분리에 어려움이 따르며 분리 정제 방법에 따라 같은 동물의 조직이라도 분자량이 크게 다르게 (약 90,000 - 400,000)보고 되어 왔다<sup>7-9)</sup>. 그러나 최근 factor VII을 이용한 affinity chromatography 방법이 고안되어 이 방법으로 정제된 TF는 분자량이 사람이나 소의 뇌의 경우 43,000 - 46,000정도로 보고되었고<sup>10-15)</sup> 화학적 또는 효소적으로 당을 제거한 후에는 분자량이 33,500 - 34,500이며, 최근에 밝혀진 cDNA의 배열분석 결과로 얻어진 아미노산 sequence 에 의해 계산된 분자량은 29,593 임이 밝혀졌다<sup>16)</sup>. 사람의 TF의 1차 구조는 263 개의 아미노산으로 구성된 single chain peptide이며 3 곳에 당 사슬이 존재하고 single hydrophobic transmembrane domain을 가지고 있다고 알려져 있으나<sup>6,17-20)</sup> 순수 분리된 TF의 apoprotein에 대한 단백질 화학적 연구는 아직 부족한 상태이다.

TF의 혈액응고 촉진작용은 혈관손상시의 지혈반응에 필수적이며 그 외에도 TF는 심근경색, 암, 그 외 기타 혈액응고에 의한 질병시에 그 혈액응고를 촉진시키므로<sup>21)</sup> 어떻게 해서 TF activity가 증가되거나 저해되는지 알아내는 것이 중요하다. TF는 혈관의 내피세포 에서 생합성되어 소포체(endoplasmic reticulum)에 저장되어 있고

정상적인 상태에서는 세포외막에 소량 존재하고, 혈장 내에는 아주 소량 존재하다가<sup>22)</sup> 감염이나 다른 병적인 상태에서 세포외막의 TF가 증가한다<sup>5)</sup>. 이때 TF가 혈액에 노출되면 외인계와 내인계의 단계적인 혈액응고 반응이 시작되어 혈액이 응고된다<sup>23)</sup>. 또한 TF는 혈관의 내피세포 이외에도 monocyte와 macrophage에도 존재하는 것으로 알려져 있다.

TF의 생성유도 (induction)에 관한 대부분의 연구가 배양한 세포에 대해 이루어졌으며 monocyte, macrophage와 endothelial cell에서 endotoxin<sup>24-26)</sup>, interleukin-1<sup>27,28)</sup>, tumor necrosis factor<sup>29)</sup>, immune complexes<sup>30-32)</sup>, some plasma lipoproteins<sup>33-34)</sup>, platelet arachidonate metabolism의 생성물<sup>35)</sup>, tumor cell line에 노출시<sup>36)</sup>, activated component of the complement system<sup>37)</sup> 등에 의해 TF의 procoagulant 활성이 증가한다고 하였다. 즉, 박테리아 등에 의한 감염이나 immunologic disease시, 세포의 파괴 시에 이러한 stimulator들이 세포표면에서 procoagulant activity를 증가시킨다고 보고 되어있다<sup>38-41)</sup>. 또한 암과 혈액응고 사이에 밀접한 관계가 있다고 알려져 있고<sup>42-46)</sup> 종양세포와 그 주변의 혈액응고는 TF에 어느 정도 기인한다고 한다<sup>46,47)</sup>. 즉, TF가 solid tumor의 stroma 형성에 중요한 역할을 할 것이라 생각되고 이 stroma가 암 세포증식에 필요하므로 최근에는 항 응고제로써 암 세포가 번지는 것을 막을 수 있는 가능성에 대해 주목하고 있다. 따라서 TF에 대한 저해제의 중요성이 대두되게 되었다.

TF의 저해제에 대한 연구들로는 Carson<sup>48,49)</sup>은 high density lipoprotein 과 apolipoprotein A-II는 TF-factor VII<sub>a</sub>에 의해 factor X이 activation 되는 과정에서 TF의 작용을 저해한다고 하였고, Rapaport<sup>50-52)</sup> 등은 TF-factor VII<sub>a</sub> activity를 저해하는데에는 factor X과 다른 plasma component들이 필요하다고 하였다. Broze<sup>5,53,54)</sup> 등은 Lipoprotein-associated coagulation inhibitor (LACI) 가 factor X<sub>a</sub> 존재 하에 TF에 의해 유도된 혈액응고를 feed back inhibition 한다고 하였다. 즉, LACI는 factor X<sub>a</sub>와 직접 결합하여 활성이 없는 factor VII<sub>a</sub>/TF/factor X<sub>a</sub>/Ca<sup>++</sup>/inhibitor complex를 형성함으로써 TF의 활성을 저해한다고 하였다. 이 LACI는 Rao 등은<sup>51)</sup> EPI(extrinsic pathway inhibitor)라고 불렀으며 Broze<sup>55)</sup> 등은 TFPI(tissue factor pathway inhibitor) 라고도 했다. LACI, EPI 는 TFPI 와 동일한 화합물임이 밝혀지면서 TFPI 가 혈액응고계를 조절하는 중요한 인자임이 명확하게 규명되었다. 그러나

TFPI는 생체 내에 존재하는 물질이며 천연물 성분 중 TF 저해제로 보고된 예는 아직 알려져 있지 않다.

## 제 2 절 재료 및 방법

### 1. 조직인자 저해작용 검색 방법

#### 가) 조직인자 (Tissue Factor) 의 분리

Sprague-Dawley rat(흰쥐) 수컷의 폐 조직 5 g에 20 ml 의 0.15 M NaCl 용액 (Saline solution)을 가하고 Ice bath 속에서 2 분간 glass-teflon homogenizer 로 마쇄하였다. 조직 마쇄액을 2000 rpm, 4 °C에서 20분간 원심 분리하여 상등액을 다시 ultracentrifuge로 31,000 rpm (105,000 x g), 4 °C에서 1시간 초원심분리하고, 침전 부분을 초원심분리한 후의 상등액과 같은 부피의 Saline 용액으로 homogenize (glass-teflon) 하여 이것을 tissue factor(TF) stock solution으로 사용하였다. 이때 TF의 회수율을 측정하기 위하여 2000 rpm 상등액(S<sub>1</sub>), 31,000 rpm 침전용액(ppt<sub>2</sub>), 그 상등액(S<sub>2</sub>)을 각각 조금씩 sampling하여 TF activity와 단백질질을 정량하였다.

### 2. 조직인자 활성 측정

#### 가) 혈장

흰쥐를 ethyl ether로 마취시킨 후 3.13 % sodium citrate 1 ml를 미리 넣어둔 주사기로 심장에서 혈액을 채취하여 10 ml가 되도록 하였다. 채취한 혈액을 플라스틱 시험관에 옮겨 2500 rpm에서 15분간 원심 분리한 후 상층의 혈장(citrated plasma) 부분만을 조심스럽게 취하여 플라스틱 시험관에 옮겼다.

#### 나) One-Stage clotting assay

Citrated plasma를 사용하여 prothrombin time을 측정하여 TF의 활성을 평가하였다. 플라스틱 시험관을 37°C 수욕상에 담가두고 plasma 100  $\mu$ l, TF stock을 saline 용액으로 희석한 것 100  $\mu$ l(saline만 100  $\mu$ l 넣은 것을 Blank로 함)를 가하고 25 mM CaCl<sub>2</sub> 100  $\mu$ l를 넣고 섞은 후 시험관을 수욕상에서 꺼내 가만히 기울여보고 다시 담그고 하면서 CaCl<sub>2</sub>를 첨가한 후부터 응고할 때까지의 시간(prothrombin time)을 재었으며 모두 2회 반복 실시하였다.

#### 다) 표준곡선

5회에 걸쳐 흰쥐 25마리의 폐의 TF를 조제하고 이것을 여러 농도로 희석하여 흰쥐 9마리에서 얻은 혈장에 대하여 one-stage clotting assay를 실시하였다. 혈장 응고시간이 18초가 될 때를 100 % TF activity로 정하고, TF를 넣지 않고 saline만 넣은 혈장의 응고시간을 0 % activity로 하여 각 농도에 따른 clotting acceleration %를 다음 Eq. 2-1에 의해 계산하였다.

$$\text{clotting acceleration (\%)} = \frac{BL - A}{BL - 18} \times 100 \quad \text{Eq. 2-1}$$

여기에서 BL은 TF를 넣지 않고 saline만 넣었을 때의 prothrombin time, A는 TF를 넣었을 때의 prothrombin time이다.

농도를 log scale로 x축에, clotting acceleration %를 y축에 표시하여 standard curve를 그렸으며 이 graph에서 50 % TF activity가 되는 TF의 양을 임의로 1 unit으로 정하였다.

#### 라) 단백질 정량

Lowry 법에 의해 정량 하였다. 시료용액 0.4 ml에 2 ml의 알카리 동용액(50ml의 2% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> in 0.1 N NaOH, 1 ml의 1% sodium tartrate, 1 ml의 0.5 % CuSO<sub>4</sub> · 5H<sub>2</sub>O를 적정직전에 새로 섞어서 사용)을 가하고 섞은 후 실온에 10분 이상 방치하였다가 0.2 ml의 Folin-Ciocalteu phenol reagent를 가하고 1-2초 내에 완전히 섞고 30분 이상 방치한 후 750 nm에서 흡광도를 측정하였다. bovine serum albumin(BSA) 용액 0.1 -

0.5 mg/ml에 대하여 동시에 실시하여 표준정량곡선으로 사용하였다.

### 3. 조직인자 저해작용의 검색

시료의 농도를 그 작용강도에 따라 1 - 1/16 까지 50% EtOH로 희석하여 사용하였다. 플라스틱 시험관을 37°C 수욕상에 담가두고 혈장 100  $\mu$ l를 취하고, TF stock을 saline 용액으로 적절히 희석한 것과 검색 하고자하는 시료 용액을 90 : 10의 비율로 미리 섞어 놓은 것 100  $\mu$ l, 그리고 25 mM CaCl<sub>2</sub> 100  $\mu$ l를 가하고 섞은 후 시험관을 수욕상에서 꺼내어 가만히 기울여보고 다시 담그고 하면서 CaCl<sub>2</sub> 첨가한 후부터 응고할 때까지의 시간을 재었으며 2회 반복 실시하였다. Prothrombin time을 단축시키는 정도에 따라 앞의 Eq. 2-1 (여기에서 BL은 TF를 넣지 않고 시료 또는 50% EtOH만 넣었을 때의 prothrombin time, A는 TF와 시료 또는 50% EtOH를 함께 넣었을 때의 prothrombin time이다.)에 의해 clotting acceleration %를 계산한 후 표준곡선을 이용하여 이때의 TF unit을 계산하고 TF의 저해율 I (%)는 다음 Eq. 2-2에 의해 계산하였다.

$$I(\%) = \frac{Bu - Au}{Bu} \times 100 \quad \text{Eq. 2-2}$$

여기에서 Au는 TF와 시료를 함께 넣었을 때의 TF unit이며 Bu는 TF만 넣었을 때의 TF unit이다.

구한 저해율 I (%)로부터 TF 1 unit 당 IC<sub>50</sub>을 구하였다.

## 제 3 절 결과 및 고찰

### 1. 조직인자 저해작용 검색

가) 한국산 수목의 메탄올 추출물의 TF 저해활성 검색

한국산 수목 181종의 methanol 추출물을 비롯하여 총 202개의 시료에 대하여 TF 저해활성을 검색하여 TF 1 unit당 50% 저해활성 순서대로 측정하여 Table 2-1에 정리하였다. 저해활성이 0.1 $\mu$ g 미만으로 그 활성이 매우 강한 것을 A급, 1 $\mu$ g 미만인 경우 B급, 10 $\mu$ g 미만인 경우 C급, 100 $\mu$ g 미만인 경우 D급, 100 $\mu$ g 이상인 경우 E급으로 분류하였으며, E급은 활성이 없는 것으로 간주하여 Table 2-1에는 나타내지 않았다.

A급은 모두 2종으로 전체의 0.99% 이었으며, B급은 23종으로 전체의 11.39%, C급은 37종 18.32%, D급은 14종 6.39%, 나머지는 E급으로 62.37% 이었다.

Table 2-1. Tissue factor inhibitory activities of Korean woody plants

Sample code	IC <sub>50</sub> /TF unit ( $\mu$ g)	Remarks*
YK97066	0.04	A
YK94014	0.05	A
YK97096	0.10	B
YK97060	0.11	B
YK97021	0.13	B
YK94020	0.24	B
YK94017	0.25	B
YK94027	0.25	B
YK96061	0.25	B
YK94022	0.28	B
YK97038	0.29	B
YK97014	0.30	B
YK94019	0.30	B
YK94003	0.30	B
YK94005	0.30	B
YK94012	0.35	B
YK96092	0.4	B
YK96068	0.5	B
YK97040	0.67	B
YK97080	0.68	B

\*A: IC<sub>50</sub>/TFunit < 0.1 $\mu$ g, B: 0.1 $\mu$ g ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 1 $\mu$ g, C: 1 $\mu$ g ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 10 $\mu$ g,

D: 10 $\mu$ g ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 100 $\mu$ g, E: 100 $\mu$ g ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit.

Table 2-1. Tissue factor inhibitory activities of Korean woody plants  
(continued)

Sample code	IC <sub>50</sub> /TF unit ( $\mu\text{g}$ )	Remarks*
YK96096	0.73	B
YK97072	0.74	B
YK97092	0.82	B
YK96098	0.85	B
YK96095	0.92	B
YK97078	1.00	C
YK96091	1.00	C
YK96099	1.00	C
YK94009	1.09	C
YK94030	1.17	C
YK97097	1.31	C
YK97010	1.39	C
YK97053	1.49	C
YK97065	1.49	C
YK97026	1.61	C
YK97095	1.79	C
YK97024	1.82	C
YK97069	1.88	C
YK97051	1.94	C
YK94002	2.00	C
YK94007	2.00	C
YK96012	2.00	C
YK94006	2.00	C
YK97023	2.07	C
YK97059	2.31	C
YK97058	2.43	C
YK97004	2.50	C

\*A: IC<sub>50</sub>/TFunit < 0.1 $\mu\text{g}$ , B: 0.1 $\mu\text{g}$  ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 1 $\mu\text{g}$ , C: 1 $\mu\text{g}$  ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 10 $\mu\text{g}$ .

D: 10 $\mu\text{g}$  ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 100 $\mu\text{g}$ , E: 100 $\mu\text{g}$  ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit.

Table 2-1. Tissue factor inhibitory activities of Korean woody plants  
(continued)

Sample code	IC <sub>50</sub> /TF unit ( $\mu\text{g}$ )	Remarks*
YK97091	2.83	C
YK97050	3.14	C
YK97005	3.48	C
YK96084	3.50	C
YK97100	3.74	C
YK97048	3.89	C
YK97007	4.00	C
YK96090	4.50	C
YK97018	4.72	C
YK97090	4.79	C
YK97073	5.05	C
YK97047	5.20	C
YK97076	5.26	C
YK97008	5.43	C
YK96087	6.00	C
YK96069	10.0	D
YK96072	10.0	D
YK97071	10.68	D
YK97075	10.90	D
YK97046	11.33	D
YK97077	13.16	D
YK96057	15.0	D
YK96070	15.0	D
YK96082	20.0	D
YK96074	20.0	D
YK96066	25.00	D
YK97009	30.00	D
YK97003	40.00	D
YK97035	45.00	D

\*A: IC<sub>50</sub>/TFunit < 0.1 $\mu\text{g}$ , B: 0.1 $\mu\text{g}$  ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 1 $\mu\text{g}$ , C: 1 $\mu\text{g}$  ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 10 $\mu\text{g}$ .

D: 10 $\mu\text{g}$  ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit < 100 $\mu\text{g}$ , E: 100 $\mu\text{g}$  ≤ IC<sub>50</sub>/TFunit.

나) 용매분획물의 조직인자 저해활성 검색

위에서 검색한 메탄올 엑스 중에서 A급 2종에 대하여 유효성분을 분리하고자 용매분획 하였으나 그 작용이 수층으로 이행되었고, 수층으로부터 성분을 단리 하고자 시도하였으나 분리과정에서 활성을 잃거나(aggregate생성), 산화하여 성분연구를 계속할 수 없었다.

그러므로 B, C, D급 중에서 저해활성이 (IC<sub>50</sub>/TF unit) 25 $\mu$ g 이하인 16종의 시료에 대하여 용매분획을 하여 각 분획에 대하여 저해활성을 측정하여 Table 2-2에 나타내었다. Hexane 분획에는 작용이 없으나 butanol 분획 > ethyl acetate 분획 > chloroform 분획 > 물 분획 순으로 저해활성의 빈도가 나타났다.

Table 2-2. Tissue factor inhibitory activities of solvent fractions of some samples

Sample	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu$ g)					
	total	hexane	chloroform	ethyl acetate	butanol	water
YK96068	0.5	-	3.67	0.65	0.76	1.52
YK96072	10.0	-	-	0.27	10.20	21.43
YK96074	20.0	-	3.33	3.81	0.86	3.14
YK96082	20.0	-	3.00	5.22	2.83	2.0
YK96084	3.5	-	-	0.21	0.17	1.1
YK96090	4.5	7.3	12.33	0.39	0.36	0.65
YK96095	0.9	22.7	2.61	1.38	0.43	1.69
YK96096	0.7	5.3	0.43	8.75	0.81	0.56
YK96098	0.85	-	6.67	1.94 S <sup>a</sup> 3.55 P <sup>b</sup>	0.71	1.42
YK96066	25.0	-	10.26	-	3.40	9.57
YK96070	15.0	-	-	-	3.71	7.26
YK96087	6.0	-	-	-	3.55	1.45
YK96091	1.0	-	1.74	-	0.58	1.29
YK96092	0.4	-	5.90	-	1.68	0.14
YK96099	1.0	-	0.02	-	0.97	3.03
YK96100	1.5	-	0.46	-	17.42	2.52

<sup>a</sup> ethyl acetate soluble

<sup>b</sup> precipitate

## 2. 항혈액응고 물질의 분리

A급으로 분류된 2종의 시료에 대하여(Table 2-1) 유효성분을 분리하기 위하여 용매분획을 실시한 바 유기용매 분획에 저해활성이 없었고 수층에 보존되거나, 저해활성이 떨어져 버렸다. 수층에 대하여 SiO<sub>2</sub>, sephadex LH-20 또는 cellulose로 크로마토그래피를 실시하였으나 작용 분획이 aggregate가 생기거나 또는 tannin성 물질임을 확인하여 더 이상 성분분리를 계속하지 않았다.

B급 - D급 중에서 식물채집에서 양을 확보할 수 있었던 16종 식물의 메탄올 추출물에 대하여 용매분획한 결과(Table 2-2) 용매분획에 따라 TF 저해활성이 잘 보존되고 저해활성이 우수한 것으로 판단되는 4종의 시료 YK96084, YK96100, YK96099 및 YK96091에 대하여 유효성분을 분리하고자 하였다.

### 가) YK96084 중 항혈액응고 물질의 분리

YK96084의 분리과정을 Scheme 2-1에 나타내었다. 시료의 hexane, chloroform, ethyl acetate, butanol, aqueous 각 분획에 대한 total activity 및 specific activity는 Table 2-3과 같다.

다섯 가지 분획 중(Table 2-3) 저해작용이 크게 나타난 ethyl acetate와 butanol 분획을 chloroform : methanol : water = 70 : 30 : 4를 전개액으로 하여 silica gel plate에서 preparative TLC하였다. UV 흡수를 기준으로 네 개의 분획으로 나눈 후 각각의 분획의 저해작용을 측정한 결과 모두 R<sub>f</sub> 0.1-0.4 정도에서 작용을 나타내었으므로 ethyl acetate와 butanol 분획을 합하여 총 23.6 g을 MeOH에 완전히 용해시킨 후 silica gel (#7734) 50 g에 혼합하여 건조시켰다. 지름 4cm의 유리 칼럼에 silica gel (#7734) 150 g을 채우고 시료를 로딩하여 용출액을 chloroform : MeOH : Water (75 : 25 : 2.5, 70 : 30 : 4, 15 : 10 : 2.5), 67% acetone, 70% MeOH로 바꾸면서 40ml씩 시험관에 받았다. 각 시험관에 모인 용액을 각각 silica gel plate에서 TLC하여 UV, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>로 발색하여 총 6개의 분획(Fr. I-VI)으로 나누어 각각의 IC<sub>50</sub>/TF unit 및 total activity를 구한 결과는 Table 2-4와 같다.

Silica gel chromatography에서 얻어진 분획 중 총 활성이 가장 높은 Fr. I 13g을

MeOH 13 ml에 녹여 sephadex LH-20 chromatography를 실시하였다. 지름 4cm, 높이 48 cm, 부피 약 600ml의 칼럼에서 MeOH 용리액으로 시험관 당 25ml씩 받고 각 시험관에 모인 용액을 silica gel plate에서 TLC하여 UV, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>로 발색한 결과 Table 2-5에서 보여진 바와 같이 4개의 분획을 얻었다. 그 중 Fr. I-1을 다시 한 번 sephadex LH-20 chromatography를 실시하여 네 개의 분획을 얻었고 그 결과는 Table 2-6에 나타내었다.

Fr. I-1의 sephadex LH-20 chromatography에서 얻어진 여러 가지 분획 중(Table 2-6) Fr. I-1b 0.95 g을 MeOH 3ml에 용해시켜 silica gel 2.41g에 반죽하여 완전히 건조시킨 후 미리 용매 CMW 75:25:2.5에 swelling시킨 silica gel (#7729) 22g에 로딩하여 시험관 당 3ml씩 받아 silica gel plate를 사용하여 CHCl<sub>3</sub> : MeOH : Water 70 : 30 : 4로 TLC를 실시하여 UV, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>로 발색하였으며 3개의 분획으로 나누었고(Table 2-7) 그 중 Fr. I-1b-3으로부터 compound I을 분리하였다. 이 물질을 얻기 까지 과정을 요약하여 Table 2-8에 나타내었다.

Fr. I-1b-3에서 methanol 용매로 compound I을 순수하게 결정으로 얻을 수 있었으며 compound I의 IC<sub>50</sub>/TF unit는 0.078 µg으로 높게 나타났다. 이 물질의 구조를 분광학적 방법으로 2-(ethylamino) ethanol임을 동정하였다

**compound I**: 2-(Ethylamino)ethanol, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>OH, m. w=89

<sup>1</sup>H-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) : δ 0.813(3H, t, J=7.2Hz), δ 1.237(2H, q, J=7.2Hz), δ 1.344(2H, q, J=6.3Hz), δ 3.348(2H, t, J=6.3Hz)

<sup>13</sup>C-NMR (300MHz, DMSO-d<sub>6</sub>+D<sub>2</sub>O) : δ 14.561(CH<sub>3</sub>), δ 19.341(CH<sub>2</sub>), δ 35.113 (CH<sub>2</sub>), δ 61.171(OCH<sub>2</sub>)

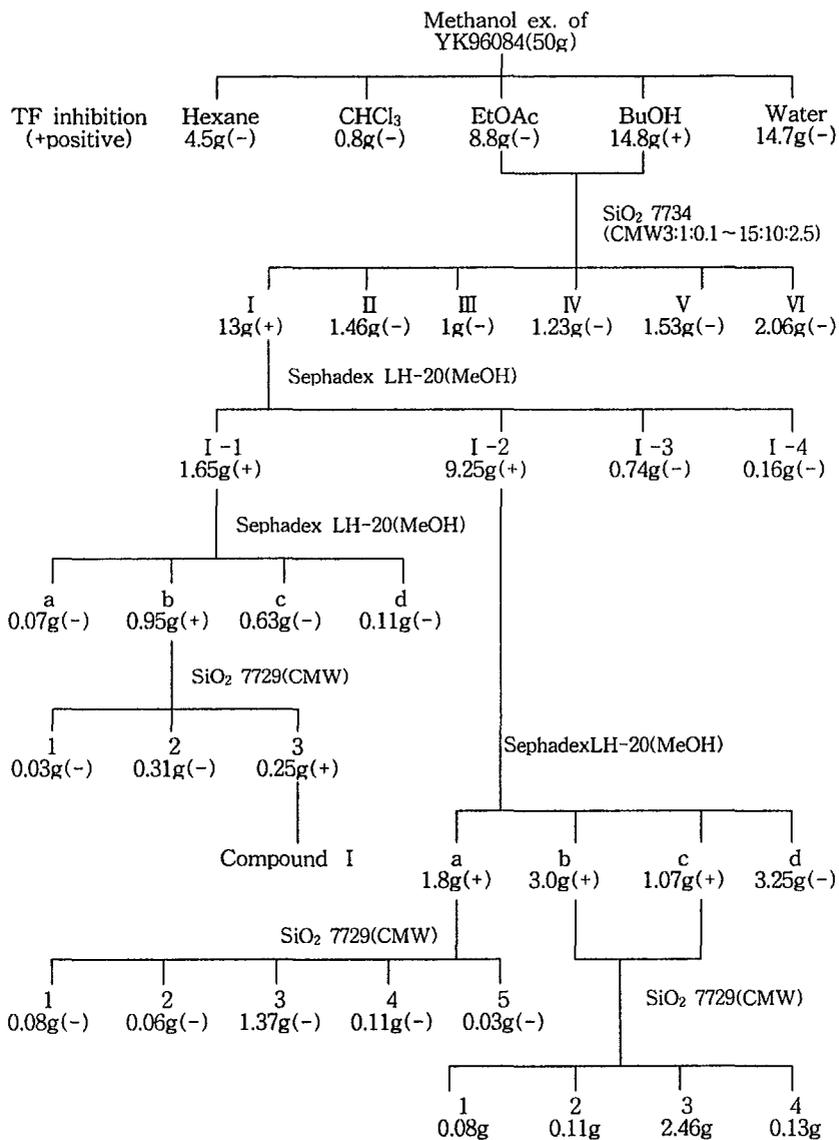
IR (KBr, ν=cm<sup>-1</sup>) : 3422, 2928, 1716, 1616, 1377, 1244, 1159, 1078, 538

한편 Table 2-5의 결과 나온 네 가지 분획 중 두 번째로 총 활성이 높은 I-2 9.25 g에 MeOH 총 10 ml를 가하니 흰 분말상의 물질이 현탁되어 3G-2 funnel로 여과하였다. 그 결과 얻어진 상등액을 Fr. I-2'라고 하고 여과물을 Fr. I-2p라고 하였으며 Fr. I-2'에 대하여 sephadex LH-20 chromatography를 실시하였다. Fr. I-2'의 경우에도 Fr. I-1의 경우와 마찬가지로 지름 4 cm 높이 48 cm 부피 약 600 ml의 칼럼에서 MeOH을 전개용매로 하여 시험관 당 25 ml씩 받고 각 시험관에 모인 용액을

silica gel plate에서 TLC하여 UV, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>로 발색시켰다. 그 결과 세 개의 분획이 얻어졌으며 이 세 개의 분획 및 Fr. I-2p의 IC<sub>50</sub>/TF unit 및 총활성은 Table 2-9과 같다.

Table 2-9의 Fr. I-2a 1.8 g을 MeOH 3 ml에 녹여 silica gel 5.4 g에 반죽하여 완전히 건조시킨 후 미리 용매 CMW = 75:25:2.5에 swelling시킨 silica gel (#7729) 20 g에 로딩하여 시험관 당 3 ml씩 받았다. 각 시험관에 모인 용액은 silica gel plate를 사용하여 TLC를 실시하였고 CMW = 70:30:4로 전개하여 UV, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>로 발색하였으며 그 결과는 Table 2-10과 같다. 각 분획에 대하여 TF저해활성을 측정하였으나 활성이 나타나지 않았다.

Fr. I-2b와 I-2c를 합하여 4.07 g을 MeOH 5ml에 녹여 silica gel 6g에 반죽하여 완전히 건조시킨 후 미리 용매 CMW = 75 : 25 : 2.5에 swelling시킨 silica gel resin (#7729) 25 g에 로딩하여 시험관 당 3ml씩 받았다. 각 시험관에 모인 용액은 silica gel plate를 사용하여 TLC를 실시하였고 chloroform : MeOH : water = 70 : 30 : 4로 전개하여 UV, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, FeCl<sub>3</sub>로 발색하였으며 그 결과는 Table 2-11와 같으며 유효성분 분리를 계속하고 있다.



Scheme 2-1. Procedure for isolation of tissue factor inhibitors from YK96084.

Table 2-3. Total and specific activities of solvent fractions of YK96084

Fractions	Wt. (g)	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu\text{g}/\text{TF unit}$ )	Total activity ( $\times 10^7$ unit)	Specific activity ( $\times 10^6$ unit/g)
hexane	4.5	-	-	-
chloroform	0.8	-	-	-
ethyl acetate	8.8	0.213	4.13	4.69
butanol	14.8	0.169	8.76	5.91
water	14.7	1.1	1.34	0.9

Table 2-4. Silica gel chromatography of ethyl acetate and butanol fraction of YK96084

Fr. No.	Solv.	Tube No.	Wt. (g)	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu\text{g}$ )	Total activity ( $\times 10^7$ )
I	CMW 75:25:2.5	11-100	13	0.306	4.248
II	CMW 70:30:4	111-140	1.46	0.155	0.942
III	CMW 70:30:4	141-240	1	2.143	0.047
IV	CMW 15:10:2.5	254-308	1.23	0.796	0.154
V	67% Acetone	309-458	1.53	0.176	0.869
VI	70% MeOH	459-688	2.06	0.224	0.920

Table 2-5. Sephadex LH-20 chromatography of Fr. I of YK96084

Fr. No.	Tube No.	Wt. (g)	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu\text{g}$ )	Total activity ( $\times 10^7$ )
I-1	1 - 22	1.65	0.055	2.98
I-2	23 - 42	9.25	0.571	1.62
I-3	43 - 65	0.74	0.625	0.12
I-4	66 - 120	0.16	0.304	0.05

Table 2-6. Sephadex LH-20 chromatography of Fr. I-1 of YK96084

Fr. No.	Tube No.	Wt (g)	IC <sub>50</sub> /uni ( $\mu$ g)	Total activity ( $\times 10^6$ )
I-1a	1 - 12	0.07	1.379	0.051
I-1b	13 - 20	0.95	0.110	8.636
I-1c	21 - 34	0.63	0.793	0.794
I-1d	35 - 59	0.11	0.603	0.182

Table 2-7. Silica Gel (# 7729) chromatography of I-1b of YK96084

Fr. No.	Tube No.	Wt. (g)
I-1b-1	1 - 19	0.03
I-1b-2	20 - 97	0.31
I-1b-3	98 - 290	0.60

Table 2-8. Summary for isolation of compound I from YK96084

Fraction	Wt. (g)	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu$ g)	Total activity <sup>a</sup> ( $\times 10^6$ units)	Specific activity <sup>b</sup> ( $\times 10^6$ units/g)
I	13.0	0.306	42.48	3.27
I-1	1.65	0.055	29.80	18.06
I-1b	0.95	0.110	8.64	78.51
I-1b-3	0.60	-	-	-
Compound I	0.25	0.078	3.21	12.8

<sup>a</sup> Total activity was calculated by following equation.

$$\text{Total activity (X } 10^6 \text{ unit)} = \frac{\text{amount (g)}}{\text{IC}_{50}/\text{TF unit (}\mu\text{g/unit)}}$$

<sup>b</sup> Specific activity was calculated by following equation.

$$\text{Specific activity (unit/g)} = \frac{\text{total activity (}\times 10^6 \text{ unit)}}{\text{amount (g)}}$$

Table 2-9. Sephadex LH-20 Chromatography of Fr. I-2 of YK96084

Fr. No.	Tube No.	Wt (g)	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu$ g)	Total activity ( $\times 10^6$ )
I-2a	1 - 41	1.8	0.603	2.985
I-2b	42 - 53	3.0	1.207	2.486
I-2c	54 - 80	1.07	0.879	1.217
I-2p	PPT	3.25	2.328	1.396

Table 2-10. Silica Gel # 7729 Chromatography of I-2a of YK96084

Fr. No.	Tube No.	Wt. (g)
I-2a-1	1 - 16	0.08
I-2a-2	17 - 26	0.06
I-2a-3	27 - 88	1.37
I-2a-4	89 - 168	0.11
I-2a-5	172 - 270	0.03

Table 2-11. Silica Gel # 7729 Chromatography of I-2bc of YK96084

Fr.	Wt. (g)	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu$ g)
I-2bc-1	0.08	NI <sup>a</sup>
I-2bc-2	0.11	NI
I-2bc-3	2.46	NI
I-2bc-4	0.13	NI

<sup>a</sup>NI = No inhibition detected

나) YK96100 중 항혈액응고물질의 분리

YK96100의 용매분획을 실시한 결과 butanol, chloroform, aqueous 각 분획에 대한  $IC_{50}/unit$ 는 Table 2-2와 같았다. 이 중 chloroform 분획의 활성이 가장 높게 나타났으나  $SiO_2$  크로마토그래피를 수행한 결과 활성이 소실되었다. butanol층에서 조직인 자 저해물질을 분리를 시도하다. butanol 분획 2.5 g을 MeOH에 용해시킨 후 silica gel (#7734) 6 g에 혼합하여 건조시켰다. silica gel (#7734) 50 g을 지름 3 cm의 유리칼럼에 채우고 시료를 로딩 하였다. 이동상은 순서대로 chloroform : MeOH = 20 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 3 : 1, 80% MeOH로 바꾸면서 30 ml씩 시험관에 받았고, 각 시험관에 모인 용액을 각각 silica gel plate에서 TLC하여 UV,  $H_2SO_4$ 로 발색하여 총 7개의 분획(Fr. I-VII)으로 나누어 각각의  $IC_{50}/unit$  및 총활성을 구한 결과는 Table 2-12과 같다.

Silica gel chromatography에서 얻어진 분획 중 총활성이 가장 높은 Fr. VII (2.3 g)을 50% EtOH 5ml에 녹여 sephadex LH-20 chromatography를 실시하였다. 지름 1.8 cm, 높이 90 cm부피 약 228 ml의 칼럼에서 50% EtOH를 전개용매로 하여 5 ml씩 시험관에 받았다. 각 시험관에 모인 용액의 TF Inhibition %를 구한 결과는 Fig. 2-1과 같으며 활성에 따라 세 개의 분획을 얻었다.

Sephadex LH-20 Chromatography에서 얻어진 분획 중 활성이 높은 VII-2 (0.42 g)을 10% EtOH 5 ml에 녹여 sephadex G-25 chromatography를 실시하였다. 지름 1.8 cm, 높이 90 cm, 부피 약 228 ml의 칼럼에 10% EtOH를 전개용매로 하여 10 ml씩 시험관에 받았다. 각 시험관에 모인 용액의 TF Inhibition %를 구한 결과는 Fig. 2-2와 같으며 칼럼에서 흡착되어 서서히 용출 되었고 용출액의 색깔이 적갈색인 것으로 보아 탄닌 성 물질로 추정하였다.

Table 2-12. Silica gel chromatography of butanol fractions of YK96100

Fr. No.	Solv.	Tube No.	Wt. (g)	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu$ g)	Total activity (unit)
I	CM 20 : 1	1-16	0.09	-	
II	"	7-19	0.10	-	
III	CM 10 : 1	20-46	0.23	-	
IV	"	47-80	0.35	135	$2.6 \times 10^4$
V	CM 5 : 1	81-110	0.31	3.7	$4.4 \times 10^9$
VI	CM 3 : 1	111-135	0.23	-	
VII	80% MeOH	136-153	2.30	0.52	$4.42 \times 10^6$

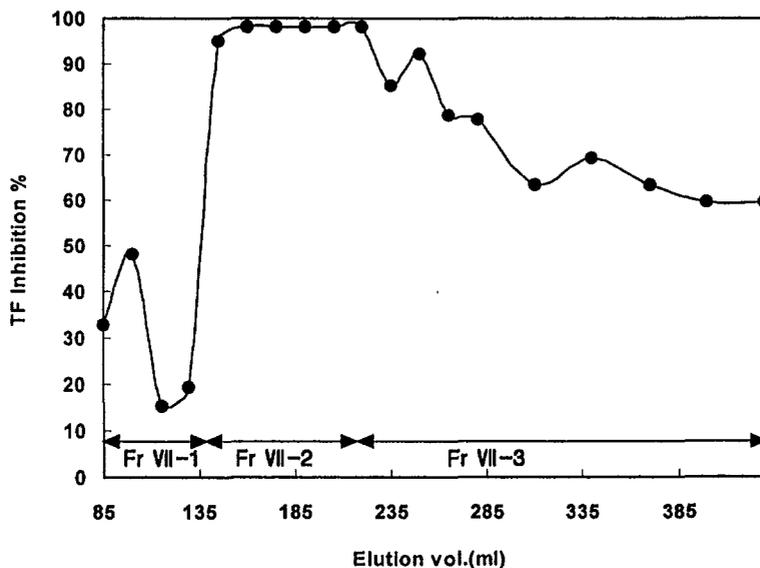


Fig. 2-1. TF inhibitory activity in sephadex LH-20 chromatography of Fr. VII of YK96100. Fr. VII-1: 0.3g, Fr. VII-2: 0.42g, Fr. VII-3: 0.39g.

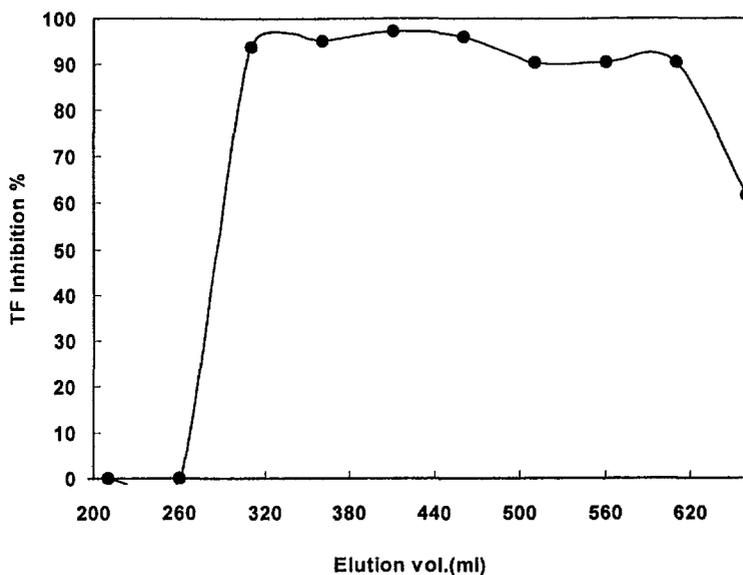


Fig. 2-2. TF inhibitory activity in sephadex G-25 chromatography of Fr. VII-2 of YK96100.

다) YK96099 중 항혈액응고물질의 분리

YK96099의 용매분획을 실시한 결과 butanol, chloroform, aqueous 각 획분에 대한  $IC_{50}/unit$ 는 Table 2-2와 같았다.

이 중 chloroform 분획의 활성이 가장 높게 나타나( $IC_{50}/TF unit, 0.02\mu g$ ) 이 층에서 조직인자 저해물질을 분리를 시도하였다. chloroform 분획 2.35 g을 MeOH에 용해시킨 후 silica gel (#7734) 6g에 혼합하여 건조시켰다. silica gel (#7734) 50 g을 지름 3 cm의 유리칼럼에 채우고 시료를 로딩 하였다. 이동상은 순서대로 chloroform : MeOH = 50 : 1, 30 : 1, 20 : 1, 10 : 1, 3 : 1, chloroform : MeOH : Water = 3 : 1 : 0.1, 15 : 10 : 2.5로 바꾸면서 30ml씩 시험관에 받았고, 각 시험관에 모인 용액을 각각 silica gel plate에서 TLC하여 UV,  $H_2SO_4$ 로 발색하여 총 7개의 분획으로 나누어 각각의  $IC_{50}/unit$  및 총활성을 구한 결과는 Table 2-13과 같다.

1차 silica gel chromatography에서 얻어진 분획 중 총활성이 가장 높은 Fr. V

0.32 g을 silica gel plate에 preparative TLC를 실시하여 물질을 분리하였다. 그 결과 11개의 물질로 분리되었으며, 이 물질의 TF Inhibition %활성은 Fig. 2-3와 같다. Rf치 0.1 이하의 작용 분획은 탄닌 반응이 나타나므로 분리를 계속 하지 않았다.

Table 2-13. Silica gel chromatography of chloroform fractions of YK96099

Fr. No.	Solv.	Tube No.	Wt. (g)	IC <sub>50</sub> /unit ( $\mu$ g)	total activity (unit)
I	CM 50:1	1 - 28	0.08	-	-
II	CM 30:1	29 - 38	0.12	-	-
III	CM 20:1	39 - 66	0.5	-	-
IV	CM 10:1	67 - 80	0.7	-	-
V	CM 3:1	82 - 102	0.32	2.1	$3.3 \times 10^5$
VI	CMW 3:1:0.1	103 - 131	0.09	13.75	$6.5 \times 10^3$
VII	CMW 15:10:2.5	132 -	0.12	15.48	$7.7 \times 10^3$

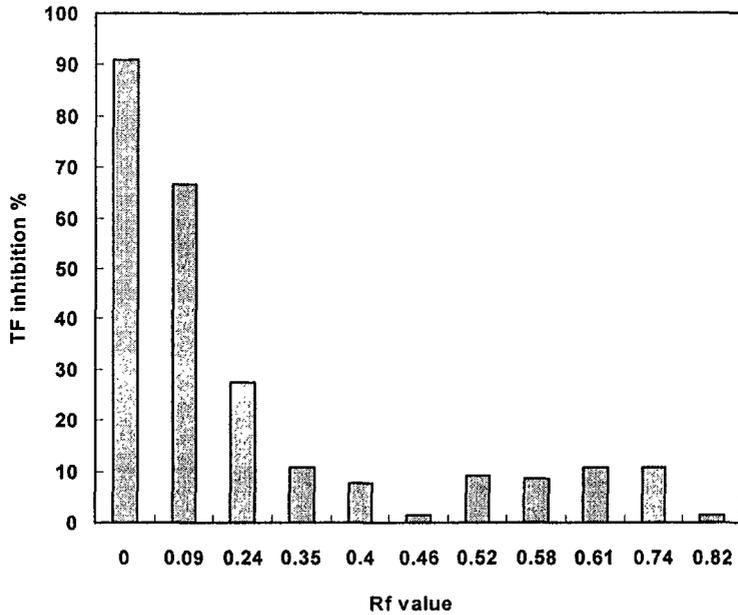


Fig. 2-3. TF inhibitory activity in silica gel chromatography of Fr. V of YK96099.

라) YK96091 중 항혈액응고물질의 분리

YK96091의 butanol, chloroform, aqueous 각 분획에 대한  $IC_{50}/unit$ 는 Table 2-2와 같다.

이 중 butanol 분획에 칼럼을 실시하였다. butanol 분획 1.2 g을 MeOH에 용해시킨 후 silica gel (#7734) 2g에 혼합하여 건조시켰다. 다음 3 cm의 유리칼럼에 silica gel (#7734) 20g을 채우고 시료를 로딩하여 전개용매를 순서대로 chloroform : MeOH = 20 : 1, 10 : 1, 5 : 1, 3 : 1, CMW = 75 : 10 : 2.5로 바꾸면서 10ml씩 시험관에 받았다. 각 시험관에 모인 용액을 각각 silica gel plate에서 TLC하여 UV,  $H_2SO_4$ 로 발

색하여 총 8개의 분획으로 나누어 각각의 IC<sub>50</sub>/unit을 구한 결과 모든 분획에서 TF Inhibition 활성이 나타나지 않았다.

#### 제 4 절 참고문헌

1. Williams W. J., and Norris D. G. : Purification of a bovine plasma protein (factor VII) which is required for the activity of lung microsomes in blood coagulation. *J. Biol. Chem.* 241(8) : 1847 (1966).
2. Nemerson Y. : The phospholipid requirement of tissue factor in blood coagulation. *J. Clin. Invest.* 47 : 72 (1968).
3. Nemerson Y. : The reaction between bovine brain tissue factor and factors VII and X. *Biochem.* 5 : 601 (1966).
4. Fukuda C., Iijima k. and Nakamura k. : Measuring tissue factor (factorIII) activity in plasma. *Clin. Chem.* 35(9) : 1897 (1989).
5. Day K. C., Hoffman L. C., Palmier M. O., Kretzemer K. K., Huang M. D., Pyla E. Y, Spokas E., Broze G. J., Warren T. G. and Wum T. C. : Recombinant lipoprotein-associate coagulation inhibitor inhibits tissue thromboplastin induced intravascular coagulation in the rabbit. *Blood* 76(8) : 1538 (1990).
6. Rehemtulla A., Pepe M. and Edgington T.S. : High level expression of recombinant human tissue factor in chinese hamster ovary cells as a human thromboplastin. *Thrombos. Haemostas.* 65(5) : 521 (1991).
7. Gonmori H., and Takeda Y. : Properties of canine tissue thromboplastins from brain, lung, arteries and veins. *Am. J. Physiol.* 229(3) : 618 (1975).
8. Gonmori H. and Takeda Y. : Properties of human tissue thromboplastins from brain, lung, arteries and placenta. *Thrombos. Haemostas.(stuttg)* 36 : 90 (1976).
9. Nemerson Y. : Characteristics and lipid requirements of coagulant proteins

- extracted from lung and brain : the specificity of the protein component of tissue factor. *J. Clin. Invest.* 48 : 322(1969).
10. Guha A., Bach R., Konigsberg W. and Nemerson Y. : Affinity purification of human tissue factor: interaction of factor VII and tissue factor in detergent micelles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 83 : 299 (1986).
  11. Bach R., Nemerson Y. and Konigsberg W. : Purification and characterization of bovine tissue factor. *J. Biol. Chem.* 256(16) : 8324 (1981).
  12. Broze G. J., Leykam J. E., Schwartz B. D. and Miletich J. P. : Purification of human brain tissue factor. *J. Biol. Chem.* 260(20) : 10917 (1985).
  13. Kang S., and Niemetz J.: Purification of human brain tissue factor. *Thrombos. Haemostas.* 59(3) : 400 (1988).
  14. Carson S. D., Bach R. and Carson S. M. : Monoclonal antibodies against bovine tissue factor, which block interaction with factor VII<sub>a</sub>. *Blood* 66(1) : 152 (1985).
  15. Rao M. L. V. and Huang A. D. : Purification and characterization of rabbit tissue factor. *Thrombos. Res.* 56 : 109 (1989).
  16. Bach R. : Initiation of coagulation by tissue factor. *CRC Critical Rev. Biochem.* 23(4) : 339 (1988).
  17. Spicer E. K., Horton R., Bloem L., Bach R., Williams K. R., Guha A., Kraus J., Lin T. C, Nemerson Y. and Konigsberg W. H. : Isolation of cDNA clones coding for human tissue factor : Primary structure of the protein and cDNA. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 84 : 5148 (1987).
  18. Scarpati E. M., Wen D., Broze G. J. Jr., Miletich J. P., Flandermeyer R. R., Siegel N. R. and Sadler J. E. : Human tissue factor : cDNA sequence and chromosome localization of the gene. *Biochem.* 26 : 5234 (1987).
  19. Morrissey J. H., Fakhrai H. and Edgington T. S. : Molecular cloning of the cDNA for tissue factor, the cellular receptor for the initiation of the protease coagulation cascade. *Cell* 50 : 129 (1987).
  20. Paborsky L. R., Tate K. M., Harris R. J., Yansura D. G., Band L., McCray

- G., Gorman C. M, O'Brien D. P., Chang J. Y., Swartz J. R., Fung V. P., Thomas J. N. and Vehar G. A. : Purification of recombinant human tissue factor. *Biochem.* 29 : 8072 (1989).
21. Bach R. and Rifikin D. B. : Expression of tissue factor procoagulant activity: Regulation by cytosolic calcium. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 6995 (1990).
22. Fleck R. A., Rao L. V. M., Rapaport S. I. and Varki N. : Localization of human tissue factor antigen by immunostaining with monospecific polyclonal anti-human tissue factor antibody. *Thromb. Res.* 57 : 765 (1990).
23. Osterud B. and Rapaport S. I. : Activation of factor IX by the reaction product of tissue factor and factor VII: additional pathway for initiating blood coagulation. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA* 74 : 5260 (1977).
24. Warr T. A., Rao M. L. V. and Rapaport S. I. : Disseminated intravascular coagulation in rabbits induced by administration of endotoxin or tissue factor: effect of anti-tissue factor antibodies and measurement of plasma extrinsic pathway inhibitor activity. *Blood* 75 (7) : 1481 (1990).
25. Bom V. J. J., van Hinsbergh V. W. M., Reinalda-Poot H. H., Mohanlal R. W. and Bertina R. M., : Extrinsic activation of human coagulation factors IX and X on the endothelial surface. *Throm. Haemostas.* 66(3) : 283 (1991).
26. Colucci M., Balconi G., Lorenzet R., Pietra A., Locati D., Donati M.B. and Semeraro N. : Cultured human endothelial cells generate tissue factor in response to endotoxin. *J. Clin. Invest.* 71 : 1893 (1983).
27. Bevilacqua M. P., Pober J. S., Majeau G. R., Cotran R. S. and Gimbrone M.A.Jr.: Interleukin-1 induces biosynthesis and cell surface expression of procoagulant activity in human vascular endothelial cells. *J. Exp. Med.* 160 : 618 (1984).
28. Schorer A. E., Kaplan M. E., Rao G. H. R. and Modlow C. F.: Interleukin-1 stimulates endothelial cell tissue factor production and expression by a prostaglandin independent mechanism. *Thromb. Haemostas.* 56 : 256 (1986).

29. Bevilacqua M. P., Pober J. S., Majeau G. R., Fiers W., Cotran R. S. and Gimbrone M. A. Jr : Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium : characterization and comparison with the actions of interleukin-1. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 83 : 4533 (1986).
30. Prydz H., Lyberg T., Deteix P. and Allison A. C : In vitro stimulation of tissue thromboplastin (factor III) activity in human monocytes by immune complexes and lectins. *Thromb. Res.* 15 : 465 (1979).
31. Amile E., Lyberg T., Kaplun A., Hetland O. and Prydz H. : Thromboplastin activity of mouse peritoneal macrophages. *Thromb. Res.* 24 : 61 (1981).
32. Tannenbaum S. H., Finko R. and Cines D. B : Antibody and immune complexes induce tissue factor production by human endothelial cells. *J. Immunol* 137 : 1532 (1986).
33. Levy G. A., Schwartz B. S., Curtiss L. K. and Edgington T. S. : Plasma lipoprotein induction and suppression of the cellular procoagulant activity in vitro : requirements for cellular collaboration. *J. Clin. Invest.* 67 : 1614 (1981).
34. Schwartz B. S., Levy G. A., Curtiss L. K., Fair D. S. and Edgington T. S. : Plasma lipoprotein induction and suppression of the generation of cellular procoagulant activity in vitro: two procoagulant activities are produced by peripheral blood mononuclear cells. *J. Clin. Invest.* 67 : 1650 (1981).
35. Lorenzet R., Neimetz J., Marcus A. J. and Broekman M. J. : Enhancement of mononuclear procoagulant activity by platelet 12-hydroxyeicosatetraenoic acid. *J. Clin. Invest.* 78 : 418 (1986).
36. Rambaldi A., Alessio G., Casali B., Passerini C. G., Donati M. B., Mantovani A. and Semeraro N. : Induction of monocyte-macrophage procoagulant activity by transformed cell lines. *J. Immunol* 136 : 3848 (1986).
37. Muhlfelder T. W., Niemetz J., Kreutzer D., Beebe D., Ward P. and Rosenfeld S. I. : C5 chemotactic fragment induces leukocyte production of

- tissue factor activity. *J. Clin. Invest.* 63 : 147 (1979).
38. Carson S. D. and Johnson D. R. : Consecutive enzyme cascades : complement activation at the cell surface triggers increased tissue factor activity . *Blood* 76(2) : 361 (1990).
39. Schorer A. E. and Moldow C. F. : Production of Tissue Factor. CRC *Endothelial cells* vol 1. Chap 6. (1988).
40. Key N. S., Vercellotti G. M., Winkelmann J. C., Moldow C. F., Goodman J. L., Esmon N. L., Esmon C. T. and Jacob H. S. : Infection of vascular endothelial cells with herpes simplex virus enhances tissue factor activity and reduces thrombomodulin expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 87 : 7095 (1990).
41. Tutuarima J. A., Hische E. A. H., van Trotsenburg L. and van der Helm H. J. : Thromboplastic activity of cerebrospinal fluid in neurological disease. *Clin. Chem.* 31(1) : 99 (1985).
42. Rickles F. R. and Edwards R. L. : Activation of blood coagulation in cancer: Trousseau's Syndrome Revisited. *Blood* 62(1) : 14 (1983).
43. Colucci M., Curatolo L., Donati M. B. and Semeraro N. : Cancer cell procoagulant activity: evaluation by an amidolytic assay. *Throm. Res.* 18 : 589 (1980).
44. Naito S., Inoue S., Kinjo M. and Tanaka K. : Thromboplastic and fibrinolytic activities of cultured human gastric cancer cell lines. *Gann.* 74 : 240 (1983).
45. Al-Mondhiry H. : Tumor interaction with hemostasis : the rationale for the use of platelet inhibitors and anticoagulations in the treatment of cancer. *Am. J. Hematol* 16 : 193 (1984).
46. Gordon S. G. and Lewis B. J. : Comparison of procoagulant activity in tissue culture medium from normal and transformed cells. *Cancer Res.* 38 : 2467 (1978).
47. Gordon S. G. and Cross B. A. : A factor X-activating cysteine protease from malignant tissue. *J. Clin. Invest.* 67 : 1665 (1981).

48. Carson S. D. : Tissue factor (coagulation factor III) inhibition by Apolipoprotein A-II. *J. Biol. Chem.* 262 : 718 (1987).
49. Carson S. D. : Plasma high density lipoproteins inhibit the activation of coagulation factor X by factor VII<sub>a</sub> and tissue factor. *FEBS Lett.* 132 : 37 (1981).
50. Sanders N. L., Bajaj S. P., Zivelin A. and Rapaport S. I. : Inhibition of tissue factor/factor VII<sub>a</sub> activity in plasma requires factor X and an additional plasma component. *Blood* 66(1) : 204 (1985).
51. Rao L. V. M. and Rapaport S. I. : Studies of a mechanism inhibiting the initiation of the extrinsic pathway of coagulation. *Blood* 69(2) : 645 (1987).
52. Lanchantin G. F. and Ware A. G. : Identification of a thromboplastin inhibitor in serum and in plasma. *J. Clin. Invest.* 32 : 381 (1953).
53. Broze G. J. Jr. and Miletich J. P. : Characterization of the inhibition of tissue factor in serum. *Blood* 69(1) : 150 (1987).
54. Gemmell C. H., Broze G. J. Jr., Turitto V. T. and Nemerson Y. : Utilization of a continuous flow reactor to study the lipoprotein-associated coagulation inhibitor(LACI) that inhibits tissue factor. *Blood* 76(11) : 2266 (1990).
55. Broze G. J. Jr. and Miletich J. P. : Isolation of the tissue factor inhibitor produced by Hep G2 hepatoma cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 84 : 1886 (1987).
56. Thiagarajan P., Shapiro S. S. and De Marco L. : Monoclonal immunoglobulin M  $\lambda$ coagulation inhibitor with phospholipid specificity : mechanism of a lupus anticoagulant. *J. Clin. Invest.* 66 : 397 (1980).

## 제 3 장 항암활성 효과검정 및 물질

### 제 1 절 서 설

악성종양 (암, tumor, cancer, malignancy, oncology)은 아직껏 그 발생 원인 및 치료법이 뚜렷하게 밝혀지지 못한 상황 속에서 범세계적으로 급속하게 확산되고 있는 무서운 질병의 하나로 성인 사망을 야기하는 가장 중요한 원인으로 알려져 있다. 1994년 미국암협회(American Cancer Society)의 조사에 의하면 해마다 전세계 인류의 0.6%에 해당하는 사람들에게서 암질환이 새롭게 발생되며 이중 절반 이상이 5년 이내에 결국 이 질병으로 사망한다고 한다. 만약 암에 대한 획기적인 치료법들이 가까운 장래에 발견되지 못할 경우 그리하여 이러한 추세로 암질환이 계속하여 발생할 경우 우리 모두는 60평생 동안 36%라고 하는 무서운 암 발생 확률을 안고 살아가야만 한다.

만족스럽지는 못하지만 이제까지 알려져 있는 암질환의 치료법으로서는 조기 진단에 의한 외과적 수술 방법이나 방사선 치료법 그리고 항암 화학 요법이 가장 잘 알려져 있으며 그밖에 면역 요법과 온열 요법 등도 종종 시도되어지고 있다. 현재 임상에서 사용되어지고 있는 항암 화학 요법 제들은 대부분 여러 가지 종류를 동시에 혹은 일정 시간 간격을 두고 각각을 따로 따로 투여하는 병용요법(combination chemotherapy)으로 환자에게 투여되어지고 있다. 이러한 병용 요법 혹은 단독 투여 요법 등이 효과적으로 이루어지기 위하여서는 독성과 약제 내성은 물론 작용 mechanism이 서로 다른 다양한 항암제가 필요에 따라 적합하게 사용되어야 할 것이다. 이러한 측면에서 볼 때 현재 사용되어지고 있는 항암제들은 대부분의 경우 독성 혹은 약제 내성의 발현 등의 심각한 부작용을 가지고 있는 취약점을 내포하고 있다. 기존 항암제의 부작용을 경감시키기 위하여 여러 가지의 시도 즉 독성을 경감시킬 수 있는 다른 약물과의 병용 투여 혹은 약제 내성 발현을 이겨낼 수 있는 또 다른 약물과의 병용 투여 등을 시도하고 있으나 큰 성과를 얻지 못하고 있는 실정이며, 결국

오늘날의 항암제 개발의 추세 역시 지난 수십 년간 전세계적으로 행하여져 왔던 연구 방향과 크게 달라진 바가 없이 기존의 항암제들이 안고 있는 부작용을 더이상 나타내지 않고 동시에 우수한 항암 효과를 가질 수 있는 새로운 항암제의 탐색으로 초점이 맞추어지고 있다.

실제로 현재 범세계적으로 이루어지고 있는 항암제 개발 연구 현황을 살펴보면 크게 두 가지 방향으로 대변할 수 있는데 우선 그 첫째로 종래의 항암제의 화학 구조를 화학적으로 변화시킨 analog의 개발 방향과 둘째로 종래의 항암제와 비교하여 전혀 새로운 화학 구조 혹은 작용 기전을 가진 약제를 육상 혹은 해양 식물이나 미생물 자원들로부터 광범위하게 탐색하여 보고자 하는 방향이라고 할 수 있다. 이와 같이 천연자원을 대상으로 유용한 항암제를 찾아내고자 하는 연구approach는 지난 수십 년간 전세계적으로 엄청난 연구 인력과 연구비용을 투자하여 massive한 연구가 이루어진 결과 오늘날까지 약 2,000여 종의 항암성 천연 화합물(natural products)들의 보고가 행하여졌고 이중 약 30종이 동물실험을 통한 임상 실험 및 안전성 시험 혹은 임상 실험의 단계에까지 진전되어 이들 중 vinblastine, taxol, adriamycin등 10여종이 시판되고 있는 실정이다. 따라서 본 연구에서는 여러 가지 암세포를 이용하여 국내에서 비교적 쉽게 채집할 수 있는 181종의 수목을 대상으로 이들 수목의 MeOH추출물의 항암활성을 검정하고 검색결과를 토대로 그 중 우수한 생리활성을 나타내는 수종의 extract로부터 생리활성을 나타내는 유효성분(들)을 분리하고 그 화학구조를 규명하고자 하였다. 이러한 목적을 가지고 수목자원의 MeOH extract의 항암효과를 *in vitro* 실험으로 검색한 연구결과를 토대로 일본목련(*Magnolia obovata*)의 줄기껍질추출물, 중산수국나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질추출물, 함박꽃나무 (*Magnolia sieboldii*)의 줄기껍질추출물, 국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.)의 줄기껍질추출물 및 플라타너스나무 (*Platanus acerifolia* Willd.)의 줄기껍질추출물 등의 수목자원을 대상으로 하여 항암유효 성분들의 분리를 하였다.

## 제 2 절 재료 및 방법

### 1. SRB method

본 연구에서 활용하고 있는 생리활성측정법은 시험관 내에서 항암작용을 간편하게 측정할 수 있는 SRB (sulfrhodamine B) 방법으로서 미국 NCI 및 여러 검정기관에서 가장 폭넓게 사용하는 방법이며 자세한 실험protocol은 다음과 같다.

가) 계대중의 암세포들을 typsin-CDTA 용액으로 처리하여 용기 부착면으로부터 분리시키고, 96-well flat bottom microplate (Falcon)에 각 well 당 세포수가 각각  $5 \times 10^3$  (A549, HCT15),  $1 \times 10^4$  (SK-MEL-2, XF498),  $2 \times 10^4$  (SK-OV-3)이 되도록 희석하여 분주한다. 이들을 CO<sub>2</sub> incubator속에서 24시간 배양하여 cell이 well의 바닥면에 부착(anchor)되도록 한 후 aspirator로 media를 제거하고 media에 녹여둔 검체를 농도별로 각각의 well 속에 넣어주고 48시간동안 계속 배양한다.

검체용액을 조제할 때는 검체를 media만을 사용하여 녹이는 (dissolve) 것을 원칙으로 하지만 경우에 따라서는 특히 검체가 난용성일 경우에는 소량의 EtOH 혹은 DMSO (dimethylsulfoxide)를 가하여 줄수도 있으나 EtOH 혹은 DMSO의 최종농도가 1%를 초과하지 않아야 한다. 또 검체용액을 암세포에 가할때는 미리 filter로 여과하여 무균상태를 유지시켜준다.

나) 48시간동안의 배양을 마친후 각 well속의 media를 aspiration으로 제거하고 10% trichloroacetic acid (TCA)용액을 각 well당 10 $\mu$ l 씩 가하고 1 시간동안 상온에서 방치하여 세포들을 고정시킨 다음 물로 5-6회 세척하여 과잉의 TCA용액을 완전히 제거하고 건조시킨다.

다) 각 well당 100 $\mu$ l 씩의 SRB 염색용액 (0.4% sulforhodamine in 1% acetic acid)을 가하여 30분간 염색하고 과잉의 염색액은 1% acetic acid로 5-6회 반복 세척하여 제거한 후 상온에서 건조시킨다.

라) 각 well당 100 $\mu$ l 씩의 10mM Trisma base (unbuffered) 용액을 가한후 titer plate shaker로 10분간 진탕하여 cell에 염색된 염색액을 용출시키고 microplate reader를 이용하여 520nm의 흡광도치 (absorbance)를 측정한다.

마) 검체용액을 넣어준 검체군의 암세포증식율 (% cell growth, 항암활성의 역)는 다음 수식에 따라 산출한다. 즉 검체용액 대신 동량의 media를 넣어준 대조군의 세포수 (C)와 zero time의 세포수(Tz) 및 검체군의 세포수(T)를 각각 각군의 흡광도치로부터 환산한다. 검체군의 암세포 증식율(% cell growth)는 Tz>T인 경우에는  $[(T-Tz)/(C-Tz)] \times 100$  으로, Tz<T인 경우에는  $[(T-Tz)/Tz] \times 100$  의 수식으로 계산

한다.

바) 각각의 농도에서 측정된 검체군의 암세포증식율을 바탕으로하여 LOTUS program의 data regression을 사용하여 검체가 해당암세포의 성장을 50% 저해하는 농도 (ED<sub>50</sub>)를 계산하고 이 ED<sub>50</sub> 치를 기준으로 하여 각 검체의 항암효과의 potency를 상호 비교하는 지표로 삼는다.

## 2. Ras farnesyltransferase (FPTase) inhibition *in vitro*

### (Farnesyltransferase [<sup>3</sup>H]SPA enzyme assay)

가) Farnesyl protein transferase(FPTase) 분리 및 정제

#### (1) Ammonium sulfate fractionation

Reiss *et al.* (1990)의 방법에 따라 male S.D.rat 50마리에서 brain을 분리하고 homogenization한 다음 ultracentrifuge (60000g)로 원심분리하여 상층액을 얻는다. 상층액에 solid ammonium sulfate을 가하여 30% 포화용액에서는 침전하지 않고 50% 포화용액에서 침전하는 단백질을 pH 7.5의 buffer에서 16시간 동안 투석한다.

#### (2) Ion-exchange chromatography

위에서 투석한 것을 Q sepharose로 충전된 XK26/20 column을 이용하여 분리 정제한다. Reiss *et al.* (1990)의 방법에 따라 0.05M NaCl에서 1M NaCl까지의 농도차를 이용한 linear gradient chromatography를 시행하여 0.3M NaCl과 0.4M NaCl농도 사이에서 FPTase 활성을 가지는 분획을 얻는다.

나) Farnesyl protein transferase assay *in vitro* (Farnesyl transferase [<sup>3</sup>H]SPA enzyme assay)

FPTase inhibitor sample을 DMSO에 녹인다. 적당한 농도의 [<sup>3</sup>H]farnesyl pyrophosphate와 biotin lamin-B에 enzyme으로는 Reiss *et al.* (1990)의 방법으로 분리한 FPTase를 가하고 준비된 enzyme inhibitor sample을 넣고 37°C에서 1시간동안 반응시킨다. stop/bead reagent를 가하고 30분후에 liquid scintillation counter로 count한다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

#### 1. 일본목련(*Magnolia obovata*)의 줄기껍질의 MeOH추출물로부터 항암성분의 분리

일본목련 (*Magnolia obovata* Thunb.)은 목련과 (Magnoliaceae)에 속하는 낙엽활엽 교목으로서 높이가 20m 지름이 1m에 달하는 거대수종이다. 일본이 원산지이나 우리나라 중부이남지역에 널리 분포하고 있다. 우리나라에서는 관상용으로 재배하기도 하지만 주로 해안지방, 도서지방에 널리 자생하고 있다. 이 수종의 줄기껍질은 예로부터 후박(厚朴 혹은 厚樸)이라는 이름의 약재로 널리 알려져 왔으며 이는 주로 흉복부의 팽만감해소, 급만성복통의 치료 등의 목적으로 단방 혹은 복방제제로 오늘날까지도 한방에서 빈번하게 사용되어지고 있다. 이와 같은 연유로 일본목련 또는 일본목련의 줄기껍질 즉 후박에 대한 현대과학적 연구는 1960대 이래 꾸준히 행하여져 왔으며 특히 이들의 약리작용 및 성분연구들이 그 주종을 이루고 있다. 이러한 연구결과 이제까지 밝혀진 일본목련의 약리작용으로는 여러 가지 병원균 및 진균류 등에 대한 항균 및 항진균작용등이 잘 알려져 있으며<sup>1,2)</sup> 그 외에 혈소판응집억제작용 (blood platelet aggregation inhibition)<sup>3)</sup> 및 그 작용mechanism<sup>4)</sup>, 항궤양효과 (antiulcer effect)<sup>5)</sup>, 항암효과 (antitumor activity)<sup>6)</sup>, 면역억제효과 (immunodepressant activity)<sup>7)</sup>, 심혈관확장효과 (vasodilator)<sup>8)</sup> 등이 잘 알려져 있다. 특히 후박이 탁월한 항궤양효과를 보여주는 연유로 일본에서는 이미 습관성음주로 야기된 위장관질환의 예방 및 치료목적으로 후박을 주원료로 사용한 의약품제제가 특허를 얻어놓은 상태이다<sup>9)</sup>. 또 후박의 항균효과 특히 치주염균 (*Streptococcus mutans*)에 대한 항균효과는 현재 우리나라 및 일본의 제약회사들이 경쟁적으로 후박을 함유하는 치약을 개발하게 하는 원동력이 되고 있다. 한편 일본목련에 함유된 성분들에 관한 연구들도 오래 전부터 진행되어 왔으며 그 결과  $\alpha$ -eudesmol,  $\beta$ -eudesmol,  $\gamma$ -eudesmol 등의 정유성분이 이미 오래 전부터 알려져왔으며, magnolol, hinokiol등 phenylpropanoid계 lignan의 dimer 및 magnocurarine 등 4급 혹은 3급

alkaloid 성분, 그밖에도 여러 가지 sesquiterpene 및 triterpene들이 알려져 있다 (10-12).

또, 최근 들어 범세계적으로 널리 행하여지고 있는 활성유도분획법 (Bioactivity-directed fractionation)에 따라 후박이 가지고 있는 여러 가지 생리활성 혹은 약리활성의 유효성분들의 분리연구가 여러 차례 행하여졌으나 최종적으로 분리된 활성성분들의 대부분이 기존에 알려진 phenylpropanoid계 lignan의 dimer 및 각종 alkaloid 성분들로 귀착되는 경우가 대부분이었다.

한편, 본 연구팀은 오래 전부터 “각종 생리활성을 가지고 있는 국산수목자원의 개발탐구”라는 궁극적인 연구취지하에 여러 국산수목자원들의 추출물을 대상으로 하여 여러 가지 생리활성을 검색하고 있으며 또 우수한 생리활성을 보여주는 수목자원에 대하여서는 별도로 전술한바와 같이 활성유도분획법 (Bioactivity-directed fractionation)에 따라 그 유효성분을 추적 분리하는 연구를 병행하여왔다.

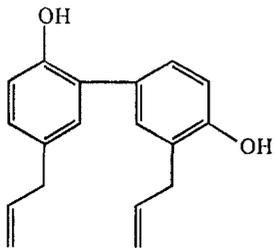
이러한 연구의 일환으로서 일본목련의 줄기껍질의 MeOH추출물이 탁월한 항암효과를 나타내고 있음을 각종 human tumor cells에 대한 시험관내 암세포성장저해효과를 지표로 한 SRB (Sulfrhodamine B)방법<sup>13)</sup>으로 확인할 수 있었다. 또, 이 방법을 monitor로 활용하여 활성유도분획법 (Bioactivity-directed fractionation)에 따라 일본목련의 줄기껍질의 MeOH추출물을 여러 차례 정제한 결과 항암활성을 발휘하는 6종의 유효성분들을 얻을 수 있었다.

본 연구팀은 현재 이들 유효성분들의 항암효과를 여러 가지 최신 biological assay system을 활용한 새로운기법 및 또 전혀 다른 bioassay방법 즉 nude mouse를 활용한 human tumor cell Xenograft technique에 따른 *in vivo* antitumor activity 확인, 신생혈관생성저해작용 (antiangiogenetic effect), apoptosis의 유도효과, 암세포 전위 및 침윤억제작용 (antimetastasis) 및 각종 oncogene들의 발현억제효과 등을 통하여 보다 구체적이고 체계적으로 연구할 목적으로 또 한편 비록 희망적이기는 하지만 이들이 장차 새로운 항암제로 개발될 경우 필수적으로 요구되는 각종 안전성 연구 등을 대비하여 이들 유효성분들을 일본목련으로부터 대량으로 분리하는 작업을 진행하고 있다.

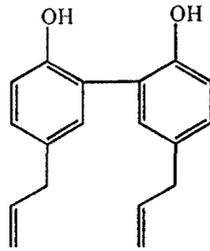
#### 가) 연구내용

식물체의 추출물 중에 함유된 항암성물질들을 분리하고자 우선 항암효과를 간편하게 측정하는 방법을 모색하였다. 즉 human tumor cell line을 배양하고 여기에 검체, 즉 식물 extract를 직접 부여하여 야기되는 세포사멸효과 혹은 세포성장저해효과를 측정하는 SRB방법을 이용하여 항암효과를 간접적으로 측정하는 *in vitro* assay방법을 확립하고 (제 2 절 연구방법 참조) 이 방법을 활용하여 수목extract의 항암활성을 test하였다. 이와 같이 측정한 각 식물들의 항암효과를 기초로 그중 비교적 항암효과가 두드러지는 일본목련을 일차적으로 연구대상으로 선정하였다. 즉 일본목련을 채집하여 잘 말린 후 분쇄기로 잘게 부순 후 상온에서 MeOH로 3주간 추출하였다. 이 일본목련 (*Magnolia obovata*)의 줄기껍질 MeOH추출물 200g을 Fig 3-1.과 같이 용매분획하고 이중 항암활성이 나타나는 EtOAc분획 60g (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 18 µg/ml)을 얻었다. 이중 20g을 취하여 SiO<sub>2</sub> column chromatography (elution solvent : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and MeOH gradient condition)를 행하여 6개의 fraction (Fr.1 - Fr.6)으로 나누었다. 이들 fraction을 각각 test한 결과 Fr.2 (5g), Fr.4 (1g) 및 Fr.5 (2.2g)가 우수한 효과를 보여주었다 (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 10 µg/ml, 20 µg/ml, 20 µg/ml respectively). Fr.2 5g을 다시 Hexane/EtOAc solvent로 SiO<sub>2</sub> column chromatography를 행하여 5종의 subfraction으로 나누었다. 이들 subfraction들을 상기한 바와 같이 bioassay-guided fractionation방법으로 즉 분획의 활성을 각각 test하고 활성이 우수한 분획을 다시 소분획으로 나누어가는 조작을 유효성분의 분리가 이루어질 때까지 계속적으로 반복하였다. 이와 같은 조작의 결과 Fr.3-2로부터 최종적으로 3종의 phenolic components (comp 1 140mg, comp 2 400mg, comp 3 450mg)를 그리고 Fr.4 및 Fr.5 로부터 3종의 alkaloids (comp A1 10mg, comp A2 6mg, comp A3 4mg)를 최종유효성분으로 분리하였으며 이들 화합물의 각종 분광학적, 이화학적 data를 종합하여 화학구조를 규명하였으며 이들 각 화합물의 항암활성, 즉 A549를 비롯한 5종의 human tumor cell line에 대한 세포성장저해효과는 Table 3-1 과 같다.

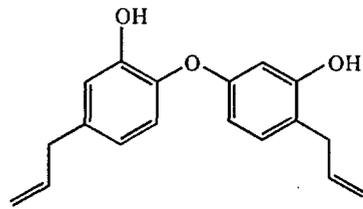
아울러 본 연구결과 및 각 화합물의 spectral data는 독일에서 발간하는 SCI journal "Planta Medica" 65, 291-292 (1999)에 발표되어 있으므로 참고바란다.



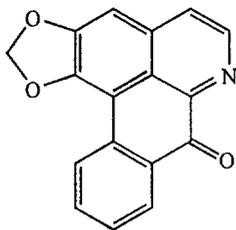
**compound 1**



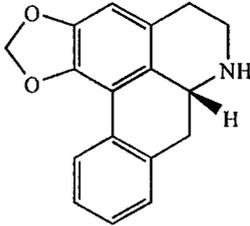
**compound 2**



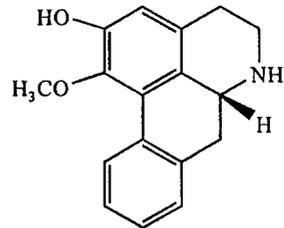
**compound 3**



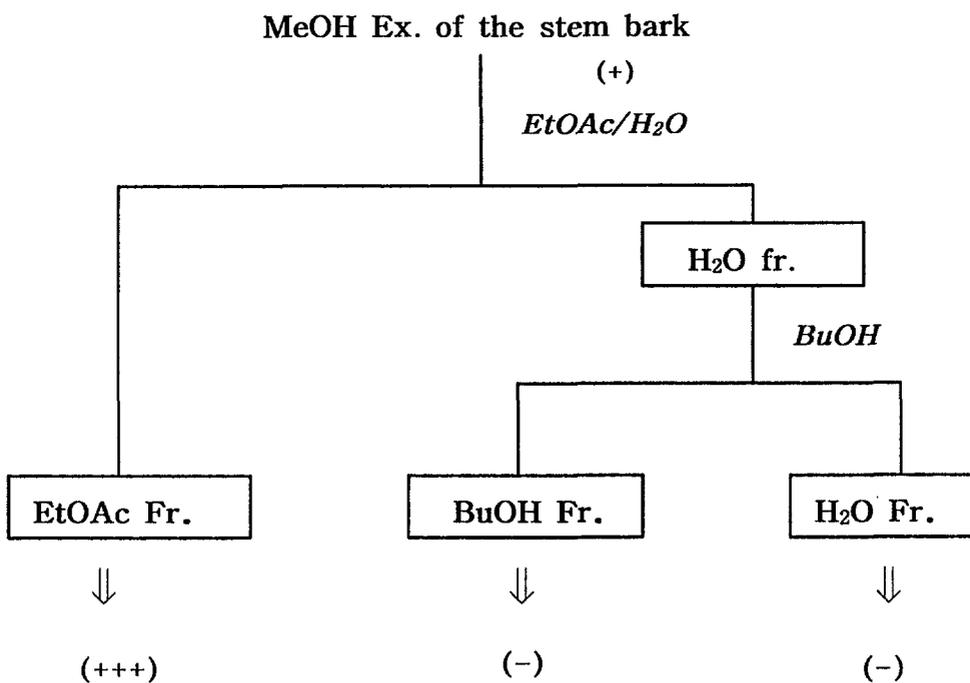
**compound 4**



**compound 5**



**compound 6**



**Fig.3-1. Fractionation scheme of *Magnolia obovata* extract**

\*symbols in parentheses mean the potency of the cytotoxicity against A549 cell *in vitro* :  
+++ : ED<sub>50</sub> < 25 μg/ml, ++ : ED<sub>50</sub> < 50 μg/ml, + : ED<sub>50</sub> < 100 μg/ml, - : ED<sub>50</sub> > 100 μg/ml.

Table 3-1. Inhibition of Tumor cell proliferation by some active components isolated from *Magnolia obovata*

	ED <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) <sup>a</sup>				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
MeOH ex.	100	90	80	50	75
EtOAc Fr.	18.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	20.2 $\pm$ 0.3	17.5 $\pm$ 0.3	12.5 $\pm$ 0.4	17.5 $\pm$ 0.3
comp 1	4.5 $\pm$ 0.1	4.3 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.2	4.0 $\pm$ 0.3	3.0 $\pm$ 0.2
comp 2	4.2 $\pm$ 0.3	5.0 $\pm$ 0.3	5.1 $\pm$ 0.2	4.8 $\pm$ 0.3	4.0 $\pm$ 0.3
comp 3	7.2 $\pm$ 0.3	6.8 $\pm$ 0.3	6.0 $\pm$ 0.4	5.8 $\pm$ 0.3	6.1 $\pm$ 0.3
comp A1	1.2 $\pm$ 0.1	2.0 $\pm$ 0.2	1.5 $\pm$ 0.1	1.8 $\pm$ 0.2	2.2 $\pm$ 0.3
comp A2	4.0 $\pm$ 0.2	6.4 $\pm$ 0.1	6.2 $\pm$ 0.1	5.8 $\pm$ 0.1	5.8 $\pm$ 0.1
comp A3	9.0 $\pm$ 0.3	25.0 $\pm$ 0.2	8.5 $\pm$ 0.2	9.9 $\pm$ 0.2	8.6 $\pm$ 0.3
cisplatin	1.4 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.4

<sup>a</sup>ED<sub>50</sub> value of compound against each cancer cell line, which was defined as a concentration that caused 50 % inhibition of cell proliferation *in vitro*.

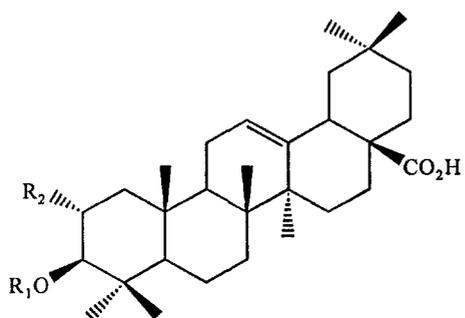
<sup>b</sup>Data are mean $\pm$ S.E.M. of three distinct experiments.

## 2. 증산국수나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질 추출물로부터 항암성분의 분리

### 가) 연구내용

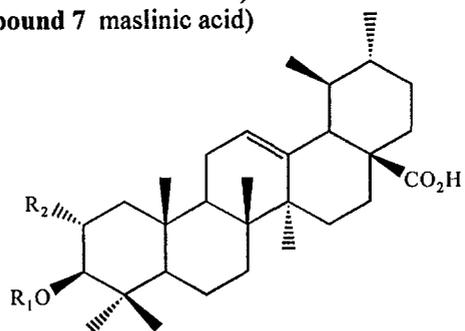
증산국수나무를 채집하여 잘 말린후 분쇄기로 잘게 부순 후 상온에서 MeOH로 3주간 추출하였다. 이 증산국수나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질 MeOH추출물 450g을 Fig 3-2. 과 같이 용매분획하고 이중 항암활성이 나타나는 EtOAc분획 30g (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 5 µg/ml)을 얻었다. 이중 7g을 취하여 SiO<sub>2</sub> column chromatography (elution solvent : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and MeOH gradient condition)를 행하여 8개의 fraction (Fr.1 - Fr.8)으로 나누었다. 이들 fraction을 각각 test한 결과 Fr.4(1.2g), Fr.5 (0.8g), Fr.6 (0.9g) 및 Fr.7 (0.6g)가 우수한 효과를 보여주었다 (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 4 µg/ml, 2 µg/ml, 3 µg/ml, 6 µg/ml respectively). Fr.5 0.8g을 다시 Hexane/EtOAc solvent로 SiO<sub>2</sub> column chromatography를 행하여 5종의 subfraction으로 나누었다. 이들 subfraction들을 상기한 바와 같이 bioassay-guided fractionation방법으로 즉 분획의 활성을 각각 test하고 활성이 우수한 분획을 다시 소분획으로 나누어 가는 조작을 유효성분의 분리가 이루어질 때까지 계속적으로 반복하였다. 이와 같은 조작의 반복결과 Fr.4로부터 현재까지 3종의 triterpene components (comp.1 500mg, comp.3 30mg, comp.4 40mg)를 유효성분으로 분리하였으며 Fr.5로부터는 comp.2 150mg를 또, Fr.6 - Fr.7로부터 comp.5 98mg, comp.6 20mg및 comp.7 25mg를 최종유효성분으로 분리하였으며 이들 각 화합물의 각종 분광학적, 이화학적 data를 종합하여 화학구조를 완전 규명하였다.

comp.1은 ursolic acid, comp.2는 3-O-caffeoyl oleanolic acid, comp.3은 betulonic acid, comp.4 는 oleanolic acid, comp.5 은 euscaphic acid, comp.6은 2 α-hydroxyursolic acid 그리고, comp.7은 maslinic acid로 최종 확인할 수 있었다. (첨부한 화학구조참조). 이들 각 화합물의 항암활성, 즉 A549를 비롯한 5종의 human tumor cell line에 대한 세포성장저해효과 (Table 3-2) 및 각 화합물의 spectral data는 별첨과 같다. 아울러 본 연구결과는 독일에서 발간하는 SCI journal "Planta Medica" 에 투고하여 게재승인을 받았다.



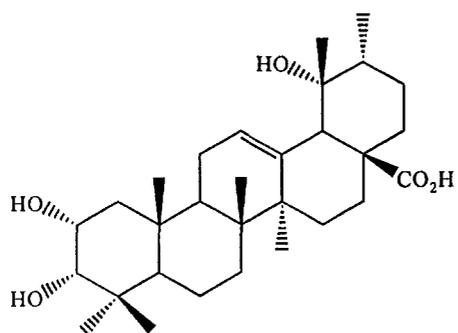
R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H (**compound 4** oleanolic acid)

R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH (**compound 7** maslinic acid)

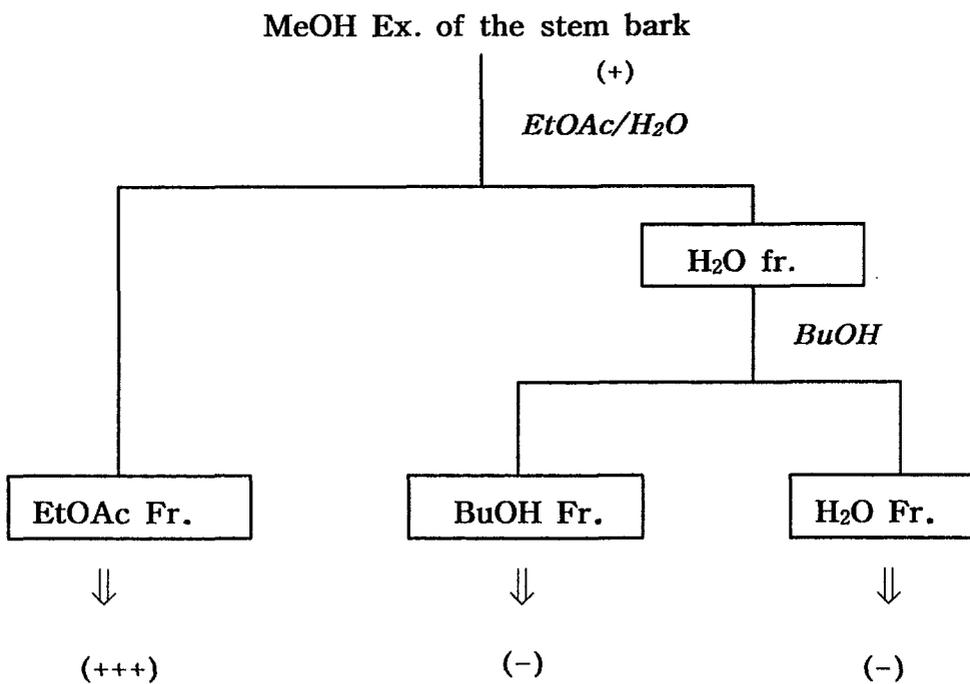


R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = H (**compound 1** ursolic acid)

R<sub>1</sub> = H, R<sub>2</sub> = OH (**compound 6** 2 $\alpha$ -hydroxy ursolic acid)



**Compound 5** euscaphic acid



**Fig.3-2. Fractionation scheme of *Physocarpus intermedius* extract**

\*symbols in parentheses mean the potency of the cytotoxicity against A549 cell *in vitro* :  
 +++ : ED<sub>50</sub> < 10 μg/ml, ++ : ED<sub>50</sub> < 50 μg/ml, + : ED<sub>50</sub> < 100 μg/ml, - : ED<sub>50</sub> > 100 μg/ml.

Table 3-2. Inhibition of Tumor cell proliferation by some active components isolated from *Physocarpus intermedius*

	ED <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) <sup>a</sup>				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
MeOH ex.	50	40	20	30	20
EtOAc Fr.	5.0 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	5.4 $\pm$ 0.3	10.0 $\pm$ 0.3	9.8 $\pm$ 0.4	15.0 $\pm$ 0.3
comp 1	4.2 $\pm$ 0.1	3.6 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.2	4.5 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.2
comp 1A*	4.7 $\pm$ 0.2	6.9 $\pm$ 0.2	4.6 $\pm$ 0.2	7.2 $\pm$ 0.3	6.4 $\pm$ 0.2
comp 2	1.6 $\pm$ 0.3	1.6 $\pm$ 0.3	1.7 $\pm$ 0.2	1.8 $\pm$ 0.5	1.7 $\pm$ 0.3
comp 3	2.0 $\pm$ 0.4	3.8 $\pm$ 0.3	2.5 $\pm$ 0.2	3.8 $\pm$ 0.3	3.7 $\pm$ 0.3
comp 4	16.4 $\pm$ 0.3	12.4 $\pm$ 0.3	18.5 $\pm$ 0.2	>30	12.1 $\pm$ 0.3
comp 5	>30	18.4 $\pm$ 0.2	>30	>30	>30
comp 5A*	3.7 $\pm$ 0.1	4.1 $\pm$ 0.2	3.9 $\pm$ 0.2	4.5 $\pm$ 0.3	3.8 $\pm$ 0.2
comp 6	4.4 $\pm$ 0.1	3.9 $\pm$ 0.2	5.1 $\pm$ 0.2	5.5 $\pm$ 0.3	4.7 $\pm$ 0.2
comp 7	19.4 $\pm$ 0.3	18.4 $\pm$ 0.5	19.8 $\pm$ 0.2	>30	15.3 $\pm$ 0.3
cisplatin	1.4 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.4

<sup>a</sup>ED<sub>50</sub> value of compound against each cancer cell line, which was defined as a concentration that caused 50 % inhibition of cell proliferation *in vitro*.

\* comp 1A는 comp 1의 methylester. comp 5A는 comp 5의 methylester.

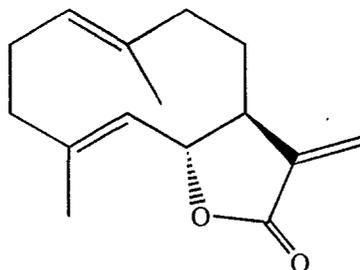
<sup>b</sup>Data are mean $\pm$ S.E.M. of three distinct experiments.

### 3. 함박꽃나무 (*Magnolia sieboldii*)의 줄기껍질추출물로부터 항암활성물질의 분리

전술한 바와 같이 SRB 방법을 활용하여 수목extract의 항암활성을 test하였다. 이와 같이 측정된 각 식물들의 항암효과를 상호비교하고 그중 비교적 항암효과가 두드러지는 수종들을 대상으로 하여 이차적으로 Ras farnesytransferase inhibitory activity를 측정된 결과 함박꽃나무 (*Magnolia sieboldii*)의 줄기껍질추출물에서 탁월한 효소저해활성이 관찰되었다. 따라서 이 수종으로부터 효소활성저해성분을 분리하고자 시도하였다. 아울러 효소활성저해효과와 함께 SRB 방법에 준한 세포독성효과도 함께 측정하여 Ras farnesytransferase inhibitory activity을 나타내는 검체가 곧 세포독성을 관장하고 있음을 알 수 있었다.

함박꽃나무를 채집하여 잘 말린 후 분쇄기로 잘게 부순 후 상온에서 MeOH로 3주간 추출하였다. 이 함박꽃나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질 MeOH추출물 170g을 증류수에 현탁시킨후 hearn, EtOAc 및 BuOH로 serial partition하고 이중 항암활성이 나타나는 EtOAc분획 40g ( $ID_{50}$  value against FPTase is ca 20  $\mu\text{g/ml}$ )을 얻었다. 이를 Octadesylsilica (ODS) column chromatography (elution solvent :  $\text{H}_2\text{O}$  and MeOH gradient condition)를 행하여 8개의 fraction (Fr.1 - Fr.5)으로 나누었다. 이들 fraction을 각각 test한 결과 Fr.2( KR72321, 3.2g), Fr.3 (KR72322, 2.5g) 및 Fr.4 (KR72323, 7.5g)가 우수한 효과를 보여주었다 ( $ED_{50}$  value against FPTase is ca 8  $\mu\text{g/ml}$ , 15  $\mu\text{g/ml}$ , 18  $\mu\text{g/ml}$  respectively). Fr.3 2.5g을 다시 Hexane/EtOAc solvent로  $\text{SiO}_2$  column chromatography를 행하여 5종의 subfraction (Fr.31-Fr35)으로 나누어 각각 FPTase저해효과를 측정된 결과 Fr.31 (KR72331, 1.5g) 및 Fr.32 (KR72332, 0.14g)이 강력한 효소저해효과를 보여주었으며 ( $ED_{50}$  value against FPTase is ca 5  $\mu\text{g/ml}$ , 10 $\mu\text{g/ml}$  respectively) Fr.31로부터 효소활성저해물질로 추정되는 comp. A (1.1g)를 분리하여 화학구조를 완전규명하였다. Compound A의 각종 spectral data를 종합 검토한 결과 이는 탄소 15개를 가진 germacrane계 sesquiterpene의 일종인 costunolide로 확인할 수 있었다 ( $ED_{50}$  value

against FPTase is ca 5  $\mu\text{g/ml}$ , 10 $\mu\text{g/ml}$  respectively). 한편 compound A는 SRB방법에 준하여 측정된 항암활성test에서도 강력한 암세포성장저해효과가 관찰되고 있어 (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 1.5  $\mu\text{g/ml}$ , SK-OV-3 ca 1.2  $\mu\text{g/ml}$ , SK-MEL-2 ca 0.5  $\mu\text{g/ml}$ , XF498 ca 1.2  $\mu\text{g/ml}$  and HCT15 ca 0.8  $\mu\text{g/ml}$ ) 암세포성장저해효과와 Ras farnesyltransferase inhibition효과 사이에는 확실한 상관관계가 나타나고 있으며 차후 이들 효과 상호간의 correlation 관계의 정립에도 크게 활용할 수 있으리라 기대된다. 또, Fr.32 및 Fr.33으로부터는 현재 또 다른 활성물질들을 분리 중에 있다.

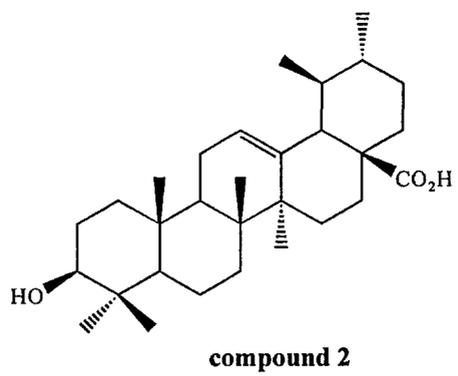
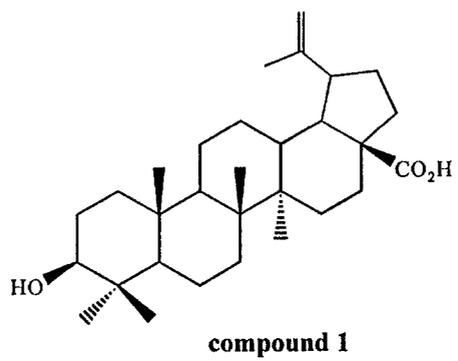


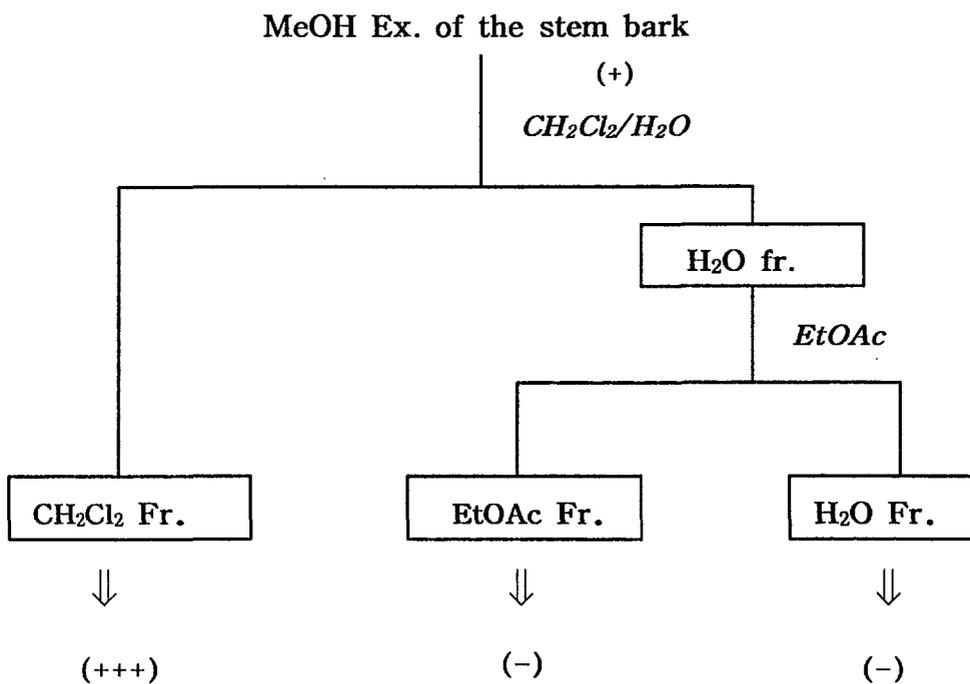
compound A costunolide

#### 4. 국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.)의 줄기껍질 추출물로부터 항암성분의 분리

국수나무를 채집하여 잘 말린 후, 분쇄기로 잘게 부순 후 상온에서 MeOH로 3주간 추출하였다. 이 국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.)의 줄기껍질 MeOH추출물 170g을 Fig 3-3.과 같이 용매분획하고 이중 항암활성이 나타나는 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>분획 68g (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 9.5  $\mu\text{g/ml}$ )을 얻었다. 이중 10g을 취하여 SiO<sub>2</sub> column chromatography (elution solvent : CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> and MeOH gradient condition)를 행하여 5개의 fraction (Fr.1 - Fr.5)으로 나누었다. 이들 fraction을 각각 test한 결과 Fr.2 (1.2g) 와 Fr.3 (3.8g)가 우수한 효과를 보여주었다 (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca

8 $\mu$ g/ml and 5  $\mu$ g/ml, respectively). Fr.3(3.8g)을 다시 Hexane/EtOAc solvent로 SiO<sub>2</sub> column chromatography를 행하여 5종의 subfraction으로 나누었다. 이들 subfraction들을 상기한 바와 같이 bioassay-guided fractionation방법으로 즉 분획의 활성을 각각 test하고 활성이 우수한 분획을 다시 소분획으로 나누어 가는 조작을 유효성분의 분리가 이루어질 때까지 계속적으로 반복하였다. 이와 같은 조작의 결과 Fr.2및 Fr.3로부터 현재까지 2종의 triterpene components (comp 1 200mg, comp 2 1800mg)를 유효성분으로 분리하였으며, 이들 화합물의 각종 분광학적, 이화학적 data를 종합하여 화학구조를 betulinic acid (compound 1) 와 ursolic acid (compound 2)로 규명하였다. 아울러 Fr.4 - Fr.5 로부터 또다른 항암활성 물질들의 분리를 시도 중에 있다. 한편 compound 2는 본 식물의 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>분획 중의 약 20%, total MeOH extract의 8%를 차지하고 있는 main component로서 차후 본 화합물이 유용한 항암제로 개발될 경우 본 화합물을 다량으로 확보할 수 있는 귀중한 천연자원으로 활용할 수 있으리라 사료된다.





**Fig 3-3. Fractionation scheme of *Stephanandra incisa* extract**

\*symbols in parentheses mean the potency of the cytotoxicity against A549 cell *in vitro* :  
 +++ : ED<sub>50</sub> < 10 µg/ml, ++ : ED<sub>50</sub> < 50 µg/ml, + : ED<sub>50</sub> < 100 µg/ml, - : ED<sub>50</sub> > 100 µg/ml.

Table 3-3. Inhibition of Tumor cell proliferation by some active components isolated from *Stephanandra incisa*

	ED <sub>50</sub> ( $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) <sup>a</sup>				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
MeOH ex.	40	55	60	60	40
CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> Fr.	9.5 $\pm$ 0.3 <sup>b</sup>	15.4 $\pm$ 0.3	20.4 $\pm$ 0.3	20.5 $\pm$ 0.4	8.2 $\pm$ 0.3
comp 1	2.0 $\pm$ 0.1	3.8 $\pm$ 0.2	2.5 $\pm$ 0.2	3.4 $\pm$ 0.3	3.7 $\pm$ 0.2
comp 2	4.2 $\pm$ 0.3	3.6 $\pm$ 0.3	4.6 $\pm$ 0.2	4.5 $\pm$ 0.3	4.4 $\pm$ 0.3
cisplatin	1.4 $\pm$ 0.1	0.9 $\pm$ 0.3	0.8 $\pm$ 0.2	0.9 $\pm$ 0.3	2.2 $\pm$ 0.4

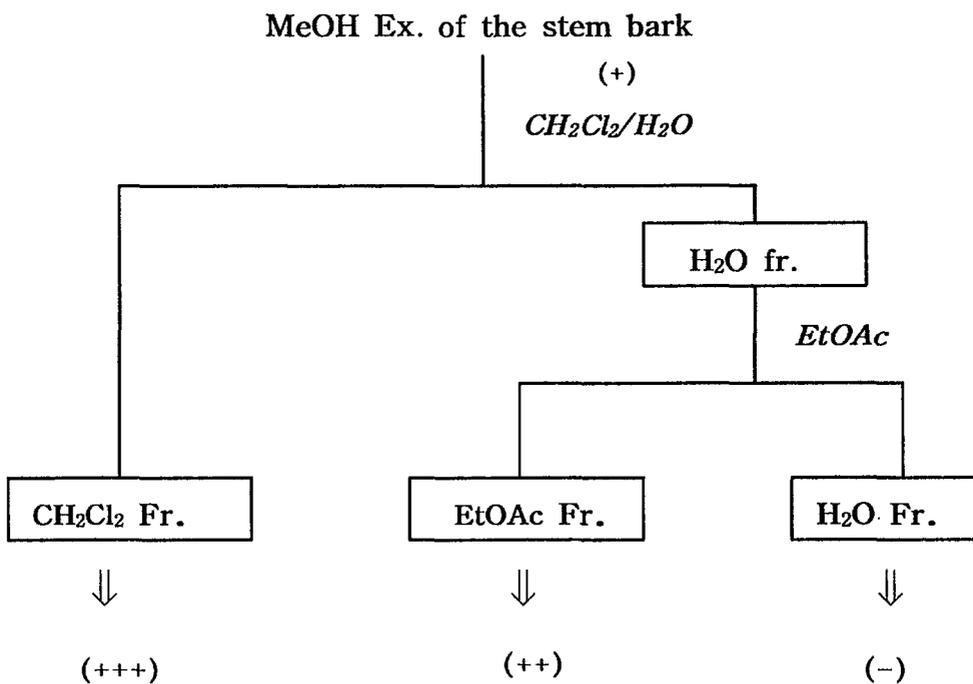
<sup>a</sup>ED<sub>50</sub> value of compound against each cancer cell line, which was defined as a concentration that caused 50 % inhibition of cell proliferation *in vitro*.

<sup>b</sup>Data are mean $\pm$ S.E.M. of three distinct experiments.

## 5. 플라타너스나무(*Platanus acerifolia* Willd.) 줄기껍질추출물로부터 항암활성물질의 분리

전술한 바와 같이 SRB 방법을 활용하여 수목extract의 항암활성을 test하여 본 결과 우수한 활성을 보여준 플라타너스나무(*Platanus acerifolia* Willd.)를 채집하여 잘 말린 후 분쇄기로 잘게 부순 후 상온에서 MeOH로 3주간 추출하였다. 이 줄기껍질 MeOH추출물 240g를 Fig 3-4.과 같이 용매분획하고 이중 항암활성이 나타나는 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>분획 62g (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 6.4  $\mu\text{g}/\text{ml}$ ) 및 EtOAc 분획 2.6 g (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 10.5  $\mu\text{g}/\text{ml}$ )을 얻었다. 이중 CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>분획 10g을 취하여 SiO<sub>2</sub> column chromatography (elution solvent : hexane and EtOAc gradient condition)를 행하여 4 개의 fraction (Fr.1 - Fr.5)으로 나누었다. 이들 fraction을 각각 test한 결과 Fr.1 (3.8g) 와 Fr.3 (1.3g)가 우수한 효과를 보여주었다 (ED<sub>50</sub> value against A549 is ca 4  $\mu\text{g}/\text{ml}$  and 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ , respectively). Fr.1(3.8g)을 다시 Hexane/EtOAc solvent로 재차 SiO<sub>2</sub> column chromatography를 행하여 3종의

subfraction으로 나누었다. 이들 subfraction들을 상기한 바와 같이 bioassay-guided fractionation방법으로 즉 분획의 활성을 각각 test하고 활성이 우수한 분획을 다시 소분획으로 나누어 가는 조작을 유효성분의 분리가 이루어질 때까지 계속적으로 반복하였다. 이와 같은 조작의 결과 Fr.1및 Fr.3로부터 현재까지 2종의 triterpene components (comp 1 1.9 g, comp 2 100mg) 와 아직껏 그 화학구조를 유추할 수 없는 compound 3 200mg를 유효성분으로 분리하였으며, 현재 이들 화합물의 각종 분광학적, 이화학적 data를 종합하여 화학구조를 규명중에 있다. 한편 compound 1 (betulinic acid) 및 compound 2 (ursolic acid)은 이미 국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.)의 줄기껍질 MeOH추출물로부터 단리한 화합물들과 동일한 화합물인 것으로 판명되었으며 따라서 이들 수종들은 함유성분의 측면에서 볼 때 매우 유사한 점을 알 수 있었다. 그러나 compound 1에 비하여 compound 2를 많이 함유하고 (약 15-20배) 있는 국수나무의 경우와는 달리 플라타너스나무(*Platanus acerifolia* Willd.)의 줄기껍질의 경우에는 compound 1을 다량으로 함유 (CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>분획 중의 약 25%, total MeOH extract의 8%)하고 있어 차후 본 화합물이 유용한 항암제로 개발될 경우 본 화합물을 다량으로 확보할 수 있는 귀중한 천연자원으로 활용할 수 있으리라 사료된다.



**Fig 3-4. Fractionation scheme of *Platanus acerifolia* extract**

\*symbols in parentheses mean the potency of the cytotoxicity against A549 cell *in vitro* :  
 +++ : ED<sub>50</sub> < 10 µg/ml, ++ : ED<sub>50</sub> < 50 µg/ml, + : ED<sub>50</sub> < 100 µg/ml, - : ED<sub>50</sub> > 100 µg/ml.

## 제 4 절 참고문헌

1. T. Namba, M. Tsunozuka and M. Hattori. Dental Caries Prevention by traditional chinese Medicine, *Planta Medica* 44, 100-106 (1982) .
2. F.S. El-Feraly, S.F. Cheatham and R.L. Breedlove, *J. Nat. Prods.* 46, 493-498 (1983)
3. J. Yamahara, S. Miki, H. Matsuda and H. Fujimura, *Yakugaku Zasshi*, 106, 888-893 (1986)
4. T.H. Tsai, J. Westly, T.F. Lee, C.F. Chen and L.C.H. Wang, *Planta Medica*, 61, 477-479 (1995).
5. Q.S. Chen, *Pharmacology and application of Chinese Merteria Medica*, Vol 2. (H.M. Chang, P.P.H. But. eds.) 878-880, World Scientific, Singapore (1986).
6. T. Konoshima, M. Kozuka, H. Tokuda, H. Nishino, A. Iwashima, M. Haruna, K. Ito, M. Tanabe, *J. Nat. Prods.* 54 816-822 (1991).
7. T. Hirano, A. Wakasugi, M. Oohara, K. Oka, Y. Sashida, *Planta Medica* 57, 331-334 (1991)
8. K. Watanabe, H. Watanabe, Y. Koto, M. Yamaguchi, N. Yamamoto and K. Hagino, *Planta Medica*, 49, 103-108 (1983).
9. K. Kudo, M. Nomura, Japan Kokkai Tokkyo Koho JP 02193926 [90193926] (IPC A61K- 033/06), 1990.
10. A. Kijjoa, M. M. Pinto, B. Tantisewie and W. Herz., *Phytochemistry*, 28, 1284 (1989)
11. J.K. Nitao, M.G. Nair, D.L. Thorgood, K.S. Johnson and J.M. Schreiber, *Phytochemistry*, 30, 2193-2195 (1989)
12. Y. Fukuyama, Y. Otsoshi, K. Nakamura, M. Kodama, M. Sugawara, M. Nagasawa, *Chem. Letter.*, 295-296 (1990).
13. Skehan, P., Streng, R., Scudiero, D., Monks, A., McMahon, J., Vistica, D.,

- Warren, J. T., Bokesch, H., Kenney, S. and Boyd, M. R. (1990). *J. Natl. Cancer. Inst.* **82**, 1107-1112.
14. Wenkert, E., Baddeley, G.V., Burfitt, I.R., Moreno, L.N. (1978) *Org. Mag. Res.* **11**, 337-341.
15. Lee, K.H., Lin, Y.M., Wu, T.S., Zhang, D.C., Yamagishi, T., Hayashi, T., Hall, I.H., Chang, J.J., Wu, R.Y., Yang, T.H. (1988) *Planta. Med.* **308-311**.
16. Pan, H, Lundgren, L.N., Anersson, R. (1994) *Phytochemistry*, **37(3)**, 795-799.
17. Seto, T., Tanaka, T., Tanaka, O., Naruhashi, N. (1984) *Phytochemistry*, **23(12)**, 2829-2834.
18. Yamagishi, T., Zhang, D.C., Chang, J.J., Mcphail, D.R., Mcphail, A.T., Lee, K.H. (1988) *Phytochemistry*, **27(10)**, 3213-3216.
19. Ryu, S.Y., Choi, S.U., Lee, S.H., Lee, C.O., No, Z., Ahn, J.W. (1994) *Arch. Pharm. Res.* **17**, 375-377.
20. Pisha, E., Chai, H., Lee, I.S., Chagwedera, T.E., Farnsworth, N.R., Cordell, G.A., Beecher, C.W., Fong, H.H., Kinghorn, A.D., Brown, D.M. (1995) *Nat. Med.* **1**, 1046-1051.
21. Kim, S.H., Ahn, B.Z., Ryu, S.Y. (1998) *Phytother. Res.* **12**, 553-556.

## 제 4 장 항바이러스 약효평가

### 제 1 절 서 설

천연두, 홍역, 소아마비 등의 바이러스 질환들은 백신접종에 의한 면역요법으로 예방이 성공적으로 이루어지고 있으나 항원의 빈번한 돌연변이, 다양한 항원을 가지고 있는 바이러스들, 또는 잠복감염이나 발병도중 viremia (바이러스가 혈액으로 퍼지는 현상)가 잘 나타내지 않는 바이러스에 대한 백신개발은 아직 어려운 형편이다.<sup>(1)</sup> 분자생물학, 생화학 등의 근대과학의 큰 발전에 힘입어 바이러스질환의 진단이 용이해지고 증식기작 및 질병기작 이해에 급속한 진전이 있었고 후천성면역결핍증(AIDS) 등의 바이러스질환의 창궐로 인하여 바이러스치료제 개발연구가 최근부터 활발히 진행되어 왔다. 그러나 아직 공인된 치료제 수가 적고 그나마 치료가 허용된 바이러스종류도 주로 AIDS 바이러스 (HIV: human immunodeficiency virus), herpes simplex virus (HSV)와 cytomegalovirus (CMV)에 불과하고 약물의 종류는 대부분 핵산유도체들이다.<sup>(2,3,4,5)</sup> 최근에 바이러스증식기작에 관한 새로운 지식과 정보 공급에 힘입어 바이러스특이기작 저해를 목적으로 하는 물질개발에 대한 시도가 많아졌고, 다른 구조와 기능을 가진 물질개발에 대한 관심이 높아지고 있으나 아직도 대량 검색에 의한 새로운 물질발견 가능성이 더 큰 편이다.

사람에게 감염하는 human herpesvirus (HHV)는 현재 8가지가 알려져 있는데, 모두 다양한 질병을 유발하고 잠복감염력이 있다.<sup>(6)</sup> 이들 중 HSV-1과 HSV-2와 varicell-zoster virus (VZV)와 Epstein-Barr virus와 CMV는 모두 AIDS 환자의 바이러스에 의한 기회감염의 주원인균들로 알려져 있고, 특히 CMV는 환자 죽음의 직접적인 원인이 되기도 하며, 장기이식실패율을 높인다.<sup>(7,8)</sup> VZV는 잠복감염 후 재발시 대상포진을 일으키는데 노인층에 질병확율이 높아 치료제 개발에 많은 관심을 끌고 있다. 따라서 HHV는 바이러스질환치료제의 개발대상으로서 큰 관심을 끌고 있다. 20세기 인류최대의 전염병으로 간주되는 AIDS라는 질병이 소개된 지 거의 20년이 되

어가지만 현재 HIV reverse transcriptase (RT)저해제들과 HIV protease 저해제들이 치료제로서 공인을 받았을 뿐이다.<sup>(4)</sup> 각 약물을 단독투여할 경우, 부작용, 치료효과, 내성균주발현 등의 문제로 환자의 생명을 일시적으로 연장시키는 효과를 갖고 있을 뿐이다. 두 가지 이상의 약물을 투여하는 복합요법이 시도되고 있고 있는데, 뚜렷한 약효를 나타내기 위해서는 세 가지 이상의 약물이용이 권장되고 있지만 바이러스를 체내에서 완전히 제거시키지는 못하기 때문에 새로운 약물을 찾아내는 일이 시급하다.

바이러스는 종류에 따라 숙주 및 증식기작등이 다르기 때문에 광범위 효과를 가진 약물을 발견하기 어렵다. 유기화합물의 경우 구조가 결정되었고 치료제가 없는 바이러스질환이 많음으로 시료량이 충분할 경우 가급적 여러 가지 바이러스에 대한 약효를 조사해보는 것이 바람직하다. Herpesvirus는 DNA virus임으로 적은 시료량으로 손쉽게 약효를 평가할 수 있는 RNA virus인 poliovirus type 1 (PV-1) (소아마비유발), coxackie B virus type 3 (CoxB3) (감기 및 열성질환, 간혹 무균성 수막염, 심장질환 유발), 와 vesicular stomatitis virus (VSV)를 시험항목으로 추가하였다. PV-1과 CoxB3는 작으면서 외피가 없는 positive-single-stranded RNA 바이러스인 picornaviridae에 속하는 enterovirus속에 포함된다. 이들은 주로 구강으로 전염되며 주로 중추신경계 질환을 유발하며 때로는 심장질환을 유발하기도 한다. 화학치료제나 예방제가 전혀 개발되어 있지 않고 poliovirus (PV)를 제외한 나머지 종류의 바이러스에 대한 백신은 개발 되어있지 않다<sup>(9)</sup>. 소나 말에 수포성 구내염을 일으키는 VSV는 외피를 가진 negative single-stranded RNA virus인 rhabdoviridae에 속하며 rabies virus (광견병유발)도 이에 포함된다.

우리 나라의 수목자원에서 항바이러스물질 발견의 연구분야는 최근에 비로소 가능해진 대량의 약효검색법으로 인하여 국제경쟁력도 있다 할 수 있고, 우리 나라 보유 자원의 생리활성 물질보유정도에 대한 정보축적이란 점에서 의의가 크다 할 수 있겠다. 따라서 본 보고서에서는 herpesvirus치료제 개발을 목적으로 수목 추출물질들에 대하여 HHV들 중 2가지 바이러스, 즉, HSV-1와 HSV-2에 대한 증식저해작용을 조사하였으며, AIDS치료제개발을 위하여 HIV와 광범위 효과조사를 위하여 PV-1, CoxB3, VSV 등의 RNA virus들에 대한 항바이러스약효검색을 수행하였다.

## 제 2 절 재료 및 방법

### 1. 재 료

우리 나라 수목들의 추출물에 대한 항Herpes바이러스약효검색을 위하여 일차로 Vero세포체계에서 HSV-1과 HSV-2에 대한 *in vitro* 항바이러스효과와 시료자체의 세포에 대한 독성을 CPE저해법을 이용하여 함께 조사하였다. AIDS치료제 개발 가능성을 조사하기 위하여 MT-4 세포체계를 이용하여 HIV에 대한 *in vitro* 항바이러스효과와 시료자체의 세포에 대한 독성을 CPE저해법으로 함께 조사하였다. 또한 일부시료에 대하여 HeLa 세포체계에서 RNA virus인 PV, CoxB와 VSV에 대한 약효검색도 CPE저해법을 이용하여 수행하였다.

#### 가) 세포

세포는 American Type Culture Collection (ATCC)으로부터 구입한 Vero세포 (African green monkey kidney cell) (ATCC CCL 81)와 HeLa세포(human cervix epitheloid carcinoma cell) 를 사용하였다. MT-4 (human T-cell transformed by co-cultivating with leukemia lymphocytes harbouring HTLV-1) <sup>(10)</sup>는 일본 동경의 과·치과대학교의 N. Yamamoto교수로부터, H9 (human cutaneous T-cell)은<sup>(11)</sup> 'MRC AIDS Reagent Project'에 의하여 영국 National Institute for Biological Standards and Control (NIBSC)로 부터 기증받았는데 원 제공자는 R. Gallo교수로서 'the NIH NIAID AIDS Research and Reference Reagent Program'에 의하여 제공되었다.

#### 나) 바이러스

시험에 사용된 human herpesvirus 들은 다음과 같다.

Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) strain F (ATCC VR-733)

Herpes simplex virus type 2 (HSV-2) strain MS (ATCC VR-734)

시험에 사용된 HIV는 다음과 같으며, 'MRC AIDS Reagent Project'에 의하여 영국의 NIBSC로부터 분양받았다.

HIV-1 strain III<sub>B</sub> [HIV-1 (III<sub>B</sub>)] : 1983년 미국에서 분리됨<sup>(11)</sup>

HIV-2 strain CBL-20 [HIV-2 (CBL20)]: 1988년 Gambia에서 분리됨<sup>(12)</sup>

원제공자 Dr. R. Weiss

시험에 사용된 RNA virus 중 enterovirus들은 다음과 같다.

Poliovirus type 1 (PV-1) strain Brunhilde

Coxsackie B virus type 3 (CoxB-3) strain Nancy

Rhabdovirus에 속하는 vesicular stomatitis virus (VSV) strain Indiana도 시험에 이용되었다.

#### 다) 시험물질 및 표준약물

시험물질로는 우리 나라 180여종 수목들의 MeOH 추출물들이었다. 표준약물로서 이용된 화합물들의 이름과 약칭과 제조회사 및 대상바이러스를 Table 4-1에 표시하였다. 그중 ACV와 AZT는 삼천리제약으로부터 기증받았으며 나머지는 구매하였다. 시료와 표준약물들을 100% dimethyl sulfoxide (DMSO)에 20 mg/ml로 녹인 후 필요에 따라 배양액으로 희석하여 사용하였다.

## 2. 실험방법

### 가) 세포배양

Vero세포와 HeLa세포를 지름 10 cm petri dish에 4 µg/ml gentamycin (Gm)(Sigma)과 5%의 열처리된 fetal bovine serum (FBS) (Gibco)이 첨가된 Dulbecco's modified Eagle (DME) (Gibco)배지(DME/5% FBS)에서 세포단층이 형성될 때까지 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 증식시켰다. Vero와 HeLa세포는 3 -4 일, HEL 299세포는 일주일 간격으로 trypsin처리를 하여 계대하였다. MT-4세포와 HIV에 감염된 H9세포의 경우 배양면적이 25 cm<sup>2</sup> (T25-flask)이거나 75 cm<sup>2</sup> (T75-flask)인 플라스크에 10%의 열처리된

FBS와 4  $\mu\text{g/ml}$  Gm이 첨가된 RPMI 1640 배지 (RPMI/10% FBS)를 이용하였으며, 37  $^{\circ}\text{C}$ , 5%  $\text{CO}_2$  배양기에서 증식시켰다. 세포배양 후 3 - 4 일 간격으로 세포를 원심분리 시킨 다음, 세포수가  $3 \times 10^5$  개/ml이 되도록 희석하여 계대배양하였다.

#### 나) 바이러스의 증식

HSV-1과 HSV-2는 Vero세포에서, RNA virus들은 HeLa세포에서 증식되었다. 즉, T75-flask에 숙주세포단층이 형성되면 배양액을 제거하였다. 바이러스를 DME/2% FBS에 희석하여 1.5 ml 바이러스 희석액에 세포 한개마다 0.1 M.O.I (multiplicity of infection)이 되도록 접종하였다. 37  $^{\circ}\text{C}$ ,  $\text{CO}_2$  배양기에서 1 시간 동안 (RNA 바이러스의 경우 30분) 흡착시킨 후 배양액을 제거함으로써 세포에 흡착되지 못한 바이러스들을 제거하였다. DME/2% FBS를 6 ml 첨가한 후 70%의 세포가 CPE (cytopathic effect)를 나타낼 때까지 계속 배양하였다. 세포와 배양액을 회수하여 시험관에 넣었다. -70 $^{\circ}\text{C}$ 에서 얼리고 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 녹이는 작업을 세번 시행한 후 4  $^{\circ}\text{C}$ , 5000 rpm으로 20분간 원심분리하였다. 상등액을 소량 씩 용기에 분주한 후 -70 $^{\circ}\text{C}$ 에 바이러스 종균액으로서 보관하였고, 실험직전에 바이러스를 37 $^{\circ}\text{C}$ 에서 신속히 녹여 사용하였다.

HIV는 바이러스에 영구감염된 H9 세포를 T75 flask에 배양하여 회수하였다. 세포를 원심분리시켜 상등액을 제거한 후 바이러스를 세포에 접종시킨 후 세포수가  $3 \times 10^5$  개/ml이 되도록 RPMI/10% FBS를 첨가한 다음 필요에 따라 계속 계대하였다. 바이러스 회수는 세포배양액을 4  $^{\circ}\text{C}$ , 2,000 rpm으로 10분간 원심분리 시킨 다음 상등액을 1 ml씩 나누어 분주한 후 액체질소 또는 -70  $^{\circ}\text{C}$ 에 바이러스 종균액으로서 보관하였고, 실험직전에 바이러스를 37  $^{\circ}\text{C}$ 에서 신속히 녹여 사용하였다.

#### 다) 바이러스 역가측정

바이러스종균액의 역가를 알기 위하여 1:10으로 연속 희석한 후 96-well plate에 confluent하게 배양된 세포단층에 well당 100  $\mu\text{l}$ 씩 접종하였다. HSV-1과 HSV-2는 1 시간, RNA 바이러스들의 경우는 30 분 동안 흡착시킨 후 100  $\mu\text{l}$ 의 배양액을 첨가하였다. HSV-1과 HSV-2의 경우 3일간, RNA virus의 경우 2일 간  $\text{CO}_2$  배양기에서 배양한 후 MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl) -2,5-diphenyltetrazolium bromide) 방법 (실험방법 차)항 참조)을 이용하여 역가를 측정하였다. HIV 종균액의 역가를 알기 위

하여 RPMI/10% FBS로 종균액을 1:10으로 연속 희석한 다음, 96-well plate에 well당 100 ul 넣어 주고,  $1 \times 10^5$  cells/ml로 희석된 MT-4세포 100 ul를 첨가하였다. 5 일 간 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 배양한 다음 현미경관찰과 MTT시험법<sup>(13)</sup>을 병행하여 CCID<sub>50</sub> (50% cell culture inhibitory dose)값을 구하였다.

라) 항herpes simplex virus 약효검색

약효검색은 virus-induced cytopathic effect (CPE) 저해법을 이용하였다 (Table 4-2 참조). 즉, 96-well plate에 Vero세포를 증식시킨 다음 DME/2% FBS 배양액으로 희석된 바이러스를 각 well에 접종량이 100 CCID<sub>50</sub> (50% cell culture inhibitory dose)가 되도록 100 ul씩 접종하고 1시간동안 37 °C에서 흡착시킨 후 배양액을 제거 하였다. 각 농도로 희석된 약물을 duplicate로 각 well에 100 ul씩 첨가하고 37°C CO<sub>2</sub> 배양기에서 3일 배양한 다음 MTT검색법 (실험방법, 차)항 참조)으로 50%의 세포를 살아남도록 한 약물의 농도를 EC<sub>50</sub> (50% effective concentration)로 결정하였다. 약효평가결과에서 약물의 독성에 의한 영향을 알 수 있도록 바이러스 접종시 바이러스가 첨가되지 않은 배양액을 세포에 더해준 다음 (mock-infected) 바이러스로 접종된 세포와 같은 방법으로 처리되었다. 즉, 한시간 배양 후 배지가 제거되었고 배양액에 희석된 약물이 duplicate로 첨가되었다. 3일 배양 후 MTT검색법으로 약물이 첨가된 각 well의 살아남은 세포수를 약물이 첨가되지 않은 세포 control well과 비교하여 50%의 세포를 죽도록 한 약물의 농도를 CC<sub>50</sub> (50% cytotoxic concentration)로 결정하였다.

마) 항human immunodeficiency virus (anti-HIV) 약효검색

약효검색은 96-well plate를 이용한 CPE저해법을 이용하였다 (Table4-2 참조). 시료를 RPMI/10% FBS에 시험농도의 2배로 희석시키고, plate의 각 well당 100 ul 씩 세포로 6 개의 well에 넣었다 [2 well은 항HIV-1(III<sub>B</sub>)검색용, 2 well은 항HIV-2(CBL20), 2 well은 mock-infected용]. 테두리 well들은 blank로서 이용하였다. Cell control, virus control과 blank를 위한 well에는 배양액만을 넣었다. MT-4 세포를 원심분리한 다음 mock-infected는 그대로, 항HIV검색용에는 100 CCID<sub>50</sub>의 바이러스 종균액을 넣어준 다음 배양액을 더하여 세포수가 ml 당  $1.0 \times 10^5$ 개가 되도록

희석하였다. Blank를 제외한 모든 well에 세포만, 또는 HIV에 감염된 세포들을 100 ul 씩 넣어준 다음 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 5 일간 배양하였다. MTT검색법을 이용하여 시료의 항바이러스효과에 의하여 항HSV약효검색과 같이 하여 EC<sub>50</sub>와 CC<sub>50</sub>를 결정하고, 시료의 SI를 계산하였다.

#### 바) 항poliovirus 약효검색

접종량이 100 CCID<sub>50</sub>로 희석된 바이러스를 96-well plate의 HeLa세포에 앞에 기술한 항HSV-1과 HSV-2약효검색법과 같이 시행하였는데, 2 일간 배양한 다음 약효를 판정하였다 (Table 4-2 참조).

#### 사) 항coxsackie B virus 약효검색

앞에 기술된 항poliovirus 약효검색방법과 같이 시험하였다 (Table 4-2 참조).

#### 아) 항vesicular stomatitis virus 약효검색

앞에 기술된 항poliovirus 약효검색방법과 같이 시험하였다 (Table 4-2 참조).

#### 자) 세포독성검사

약물이 세포에 끼치는 독성을 세포성장에 주는 영향조사 (cell growth test)와 성장이 멈춘 세포를 죽이는 독성조사 (cell viability test)의 두가지 측면에서 조사할 수 있다. 항HIV약효검색에서의 mock-infected 실험은 전자에 대하여, 나머지 바이러스들에 대한 약효검색시 mock-infected는 후자에 대한 조사였다.

#### 차) MTT검색법

이 검색법은 살아남은 세포의 mitochondrial dehydrogenase가 노란색을 띤 MTT를 보라색을 지닌 formazan으로 환원시키고, 이 생성물을 유기용매로 녹여 흡광도를 측정하여 살아있는 세포와 죽은 세포의 수를 상대적으로 비교하는 것이다.<sup>(13)</sup> 배양이 끝난 Vero세포의 배양액을 제거하고 DME/2% FBS에 3 mg/ml로 희석된 MTT (Sigma)액을 96-well plate의 well당 50 ul씩 넣어준 후 37 °C CO<sub>2</sub> 배양기에서 두시간 동안 배양하였다. 산성화된 isopropanol/6% triton X-100액을 100 ul 씩 각 well에 넣어준 후

교반기를 이용하여서 formazan결정들이 완전히 녹도록 하였다. Microplate reader (Vmax, Molecular Devices)를 이용하여 540 nm와 690 nm에서의 흡광도를 읽었다. A<sub>540</sub>과 A<sub>690</sub>의 흡광편차에서 blank값을 뺀 다음 cell control과 virus control과 비교하였다.

즉, 세포독성은

$$\frac{\text{cell control 흡광도} - \text{시료만 첨가된 흡광도}}{\text{cell control 흡광도} - \text{blank 흡광도}} \times 100(\%) \text{로서,}$$

항바이러스효과는

$$\frac{\text{시료와 바이러스가 첨가된 흡광도} - \text{virus control 흡광도}}{\text{cell control 흡광도} - \text{virus control 흡광도}} \times 100 (\%) \text{로서}$$

계산했다. 항바이러스값으로 부터 EC<sub>50</sub>와 세포독성 값으로 부터 CC<sub>50</sub>를 구한 후 selectivity index (SI) (CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>) 를 구하였다.

### 제 3 절 결과 및 고찰

우리 나라 수목들의 MeOH추출물에 대한 항바이러스 약효를 평가하였다. 일차로 Vero세포체계에서 herpes simplex virus type 1과 type 2에 대한 *in vitro* 항바이러스 효과와 시료자체의 세포에 대한 독성을 CPE저해법을 이용하여 함께 조사하였다. AIDS치료제 개발가능성을 조사하기 위하여 모든 시료들에 대하여 MT-4세포체계를 이용한 항HIV약효를 CPE저해법을 이용하여 조사하였다. 또한 HeLa 세포체계에서 일부 시료에 대한 RNA virus 인 poliovirus, coxsackie B virus 와 vesicular stomatitis virus에 대한 약효검색도 CPE저해법을 이용하여 수행하였다. 시험된 약효검색 항목을 Table 4-3에 요약하여 표시하였고, 각 시료의 항바이러스 효과를 부록에 요약하였다.

## 1. 항 herpes simplex virus 약효검색

시험이 의뢰된 모든 시료에 대하여 일차로 HSV-1 strain F와 HSV-2 strain MS와 세포독성으로서 cytotoxic effect를 조사하였다. 실험방법에 기술한 바와 같이 접종량 100 CCID<sub>50</sub>인 바이러스로 96-well에 배양된 Vero 세포를 감염시키고 1시간 흡착시킨 다음 시험약물을 duplicate로 첨가하였다. 매 실험마다 ACV와 Ara-C를 표준약물로서 이용하였다. 3일 배양 후 CPE 저해법으로 약물이 첨가되지 않은 virus control과 약물이 첨가된 well의 세포수를 상대적으로 비교하여 항바이러스약효를 EC<sub>50</sub>값으로서 표시하였다. 또한 약물의 항바이러스약효가 약물이 지니는 독성에 의해 받는 영향을 조사하기 위하여 바이러스없이 약물만 duplicate로 첨가하여 세포독성을 함께 조사하였다. 모든 실험 과정은 항바이러스 약효와 동시에 같은 방법으로 수행되었고 약물이 첨가되지 않은 well을 cell control로 하였다. 약물이 첨가된 well에 살아남은 세포수가 1 CCID<sub>50</sub>가 되는 약물의 농도를 cell control과 비교하여 조사하였다. CC<sub>50</sub>값과 EC<sub>50</sub>값을 비교하여 SI값을 구하였다 (CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>). SI가 1은 50% 독성을 나타내는 농도와 50% 바이러스저해농도와 같음을 뜻하며, 10인 경우는 독성치의 1/10 농도에서 항바이러스약효를 나타냄을 뜻한다. 따라서 SI값이 높을수록 독성은 적고 약효가 큼을 뜻하고 개발가치가 높음을 뜻한다.

수목들 모두에 대하여 약효를 평가하였는데, 300 ug/ml을 최고 농도로 하여 3 배 연속 희석하여 실험하였는데, 미약한 독성이 관찰된 농도에서 항바이러스 약효를 나타낸 시료들이 몇 개 있었으나, CC<sub>50</sub>값 보다 낮은 농도에서 뚜렷한 약효를 나타내는 시료는 발견되지 않았다 (Table 4-4).

## 2. 항 human immunodeficiency virus 약효검색

약효검색은 MT-4세포를 바이러스로 감염시키고 약물을 처리한 다음, 96-well plate에 배양하여 CPE저해 정도를 MTT검색법으로 조사하였다. 시험이 의뢰된 모든 시료에 대하여 일차로 HIV-1 strain III<sub>B</sub>와 HIV-2 strain CBL-20와 세포독성으로서

cytostatic effect를 조사하였다. 실험방법에 기술한 바와 같이 시료를 RPMI/10% FBS에 시험농도의 2배로 희석시키고, plate의 각 well당 100 ul 씩 세로로 6 개의 well에 넣었다 [2 well은 항HIV-1(III<sub>B</sub>)검색용, 2 well은 항HIV-2(CBL20), 2 well은 mock-infected용]. 테두리 well들은 blank로서 이용하였다. Cell control, virus control과 blank를 위한 well에는 배양액만을 넣었다. MT-4 세포를 원심분리한 다음 mock-infected는 그대로, 항HIV검색용에는 100 CCID<sub>50</sub>의 바이러스 중균액을 넣어준 다음 배양액을 더하여 세포수가 ml 당  $1.0 \times 10^6$ 개가 되도록 희석하였다. Blank를 제외한 모든 well에 세포만, 또는 HIV에 감염된 세포들을 100 ul 씩 넣어준 다음 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> 배양기에서 5 일간 배양하였다. 매 실험마다 AZT를 표준약물로서 이용하였다. 5일 배양 후 CPE 저해법으로 약물이 첨가되지 않은 virus control과 약물이 첨가된 well의 세포수를 상대적으로 비교하여 항바이러스약효를 EC<sub>50</sub>값으로, 세포독성치는 CC<sub>50</sub>값으로서 계산한 다음 SI값을 구하였다 (CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>).

우리나라 수목들 모두에 대하여 250 ug/ml을 최고 농도로 하여 5 배 연속 희석하여 HIV-1과 HIV-2에대한 약효를 평가하였다. 일반적으로 cytostatic effect가 측정된 세포독성값 CC<sub>50</sub>이 cytotoxic effect가 측정된 Vero나 HeLa세포에서보다 낮게 나왔으며, 뚜렷한 항바이러스약효는 관찰되지 않았다 (Table 4-4). 시료 YK-96095는 HIV-1에 대하여는 효과를 나타내지 않고 HIV-2에 대하여 효과를 나타냈는데 (CC<sub>50</sub> 74.8 ug/ml, EC<sub>50</sub> 8.7 ug/ml, SI 9) (Fig. 4-2), 상품개발가치는 HIV-1이 더 크기 때문에 집중적인 연구대상에서 제외되었다.

### 3. 항 RNA virus

#### 가) 항 enterovirus 약효검색

실험방법에 기술된 바와 같이 PV-1 strain Brunhilde와 CoxB3 strain Nancy에 대한 항바이러스약효를 HeLa세포체계에서 검색하였다. 약물의 cytotoxic effect도 함께 조사되었으며 표준약물로는 ribavirin을 이용하였다. 모든 시료에 대한 약효검색이 수행되었는데, 300 ug/ml을 최고 농도로 하여 3 배 연속 희석하여 실험하였는데 (Table 4-4) 시료 YK-96069, YK-96077 등이 항바이러스약효를 나타냈는데, 계속적인

연구의 필요성조사를 위하여 한단계 더 정제된 시료들에 대한 약효검색확인과 HeLa세포에 대한 cytostatic effect 등의 조사가 더 요구된다.

나) 항 vesicular stomatitis virus

항enterovirus 약효검색법과 같은 방법으로 HeLa세포체계에서 동시에 수행되었다. 표준약물은 ribavirin이었으며 모든 시료에 대한 약효검색이 수행되었으며 시료 YK96069, YK96077 등이 항바이러스 약효를 나타냈는데, 지속적인 연구의 필요성조사를 위하여 한 단계 더 정제된 시료들에 대한 약효검색확인과 HeLa세포에 대한 cytostatic effect 등의 조사가 더 요구된다.

Table 4-1. List of the standard compounds

Abbr.	Compound	Manufacture	Tested virus
ACV	acyclovir 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine	Samchunli	HSV-1, HSV-2, VZV
Ara-C	cytosine-β-D-arabinofuranoside	Sigma	HSV-1, HSV-2, VZV
AZT	3'-azido-3'-deoxythymidine	Samchunli	HIV-1, HIV-2
Rib	Ribavirin	ICN	PV-1, CoxB3, VSV

Table 4-2. Summary of the conditions for *in vitro* antiviral evaluation

Virus	Host cell	Virus adsorption time (min)	Incubation time (d)	Assay	standard compounds
HSV-1	Vero	60	3	CPE/MTT	ACV, ara-C
HSV-2	Vero	60	3	CPE/MTT	ACV, ara-C
HIV-1	MT-4	-	5	CPE/MTT	AZT
HIV-2	MT-4	-	5	CPE/MTT	AZT
PV-1	HeLa	30	2	CPE/MTT	Ribavirin
CoxB3	HeLa	30	2	CPE/MTT	Ribavirin
VSV	HeLa	30	2	CPE/MTT	Ribavirin

Table 4-3. Numbers of the compounds tested

Family	Virus	Strain
Herpesviridae	Herpes simplex virus type 1	F
	Herpes simplex virus type 2	MS
Retroviridae	Human immunodeficiency virus type 1	III <sub>B</sub>
	Human immunodeficiency virus type 2	CBL20
Picornaviridae	Poliovirus type 1	Brunhilde
	coxsackie B virus type 3	Nancy
Rhabdoviridae	Vesicular stomatitis virus	Indiana Lab

## 제 4 절 참 고 문 헌

1. Prusoff WH, Lin T-S, Zucker M: Potential targets for antiviral chemotherapy. *Antiviral Res* 6:311-328, 1986.

2. Lee, Chong K: Present trends in the development of antiviral agents. *Pharma News* 2(1): 2-21, 1992.
3. De Clercq E: New acquisitions in the chemotherapy of viral infections. *Verhandelingen Koninklijke Academie voor Geneeskunde van België* 52:69-99, 1990.
4. De Clercq E: In search for a selective antiviral chemotherapy. *Clinical Microbiol Rev* 10: 674-693, 1997
5. Boon R: Antiviral treatment. *Antiviral Chem Chemotherapy* 8 (suppl. 1): 5-10, 1997
6. Griffiths P: The herpesvirus family in the 21st century. *Antiviral Chem Chemotherapy* 8 (suppl. 1): 11-15, 1997
7. Mills J, Masur H: AIDS-related infections. *Scient American*:32-39, August, 1990.
8. Nelson JA, Ghazal P, Wiley CA: Role of opportunistic viral infections in AIDS. *AIDS* 4:1-10, 1990.
9. Diana GD, Pevear DC: Antipicornavirus drugs: current status. *Antiviral Chem Chemotherapy* 8: 401-408, 1997
10. Miyoshi I, Kubonishi I, Yoshimoto S, Akagi T, Ohtsuki Y, Shiraishi Y, Nagata K, Hinuma Y: type C virus particles in a cord T-cell line derived by co-cultivating normal human cord leukocytes and human leukemic T cells. *Nature* 294: 770-771, 1981
11. Popovic M, Sarngadharan MG, Read E, Gallo RC: Detection, isolation, and continuous production of cytopathic retroviruses from patients with AIDS and pre-AIDS. *Science* 224: 497-500, 1984
12. Schultz TF, Whitby D, Hoad JG, Corrah T, Whittle H, Weiss RA: Biological and molecular variability of human immunodeficiency virus type 1 isolates from the Gambia. *J Virol* 64: 5177-5182, 1990
13. Pauwels R, Balzarini J, Baba M, Snoeck R, Schols D, Herdewijn P, Desmyter J, De Clercq E: Rapid and automated tetrazolium- based colorimetric assay for the detection of anti HIV compounds. *J Virol Methods* 20:309-321, 1988.

## 제 5 장 결론 및 활용에 대한 건의

### 제 1 절 결론

국내에서 채집 가능한 수목 181종을 비롯하여 202가지의 추출물에 대한 생리활성을 검정하였다. MeOH 추출물에 대한 항혈액응고 작용을 검색한 결과 A급으로 2종, B급으로 23종, C급으로 37종, D급으로 14종의 수목이 생리활성을 나타냄이 확인되었다. 항바이러스 약효검색에서는 대체로 활성을 나타내지 않으나 YK96069, YK96077, YK97016, YK97047, YK97058, 그리고 YK97076에서 약하나마 활성을 나타냄이 관찰되었고, 항암활성에 대한 검색결과는 상당수의 수목 추출물이 암세포의 성장을 강하게 억제함을 보여 주었으므로 (부록참조) 이 분야에 대한 지속적인 연구를 통하여 유용한 생리활성물질의 개발이 요구된다.

지금까지 “일본목련 (*Magnolia obovata*)의 줄기껍질추출물로부터 항암성분들의 분리” 라는 주제의 연구성과를 국내학술대회 (97년도 목재공학회, 97년도 대한약학회)에서 발표하였고, 독일에서 발행하는 SCI journal “*Planta Medica*” 투고하였으며 (*Planta Medica* 65, 291-292 (1999)), “중산국수나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질 MeOH추출물로부터 분리한 항암활성물질”에 관한 연구내용은 국내학술대회 (98년도 목재공학회, 98년도 대한약학회)에서 발표하였으며 현재 SCI journal “*Planta Medica*” 투고하여 게재승인을 받았다. 또한, “함박꽃나무의 줄기껍질에서 분리한 Ras-farnesyl transferase의 저해물질에 관한 연구”도 학술지투고를 검토하고 있다. 한편 betulinic acid와 ursolic acid를 해당식물자원 {국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.) 및 YK96105 : 플라타너스나무 (*Platanus acerifolia* Willd.)}으로부터 다량으로 확보할 수 있는 간편한 방법을 확립하여 현재 잡목 혹은 값싼 街路樹용으로만 사용되고 있는 이들 樹種들을 高附加價値 상품으로 개발할 수 기술을 개발하여 현재 2건의 특허를 출원 (출원번호:10-1999-0033000, 제목: 증은추출장치와 진공 크로마토그래피를 이용한 식물성분의 분리·정제공법), (출원번호:10-1999-0038466, 제목: 플라타너스나무로부터 베헤롤린산의 생산기술)하였다.

## 1. 항혈액응고물질 개발연구

가) 한국산 수목으로부터 항혈액응고작용 물질을 개발하기 위하여 생물활성 검색법으로 조직인자(TF) 저해활성 측정법을 도입하였다. 조직인자는 혈관내피 세포에 존재하면서 혈관 손상시 혈액으로 유입되어 혈액응고계의 내인계 경로 및 외인계 경로를 모두 개시하는 인자로 알려져 있기 때문이다.

나) 한국산 수목 181 종의 메탄올 추출물 대하여 TF 저해 활성을 검색하여 TF 1 unit 당 50% 저해활성(IC<sub>50</sub>/TF unit)을 측정하여 역가를 평가하였다. 저해활성(IC<sub>50</sub>/TF unit)이 0.1 $\mu$ g 미만일 때 A급, 1 $\mu$ g 미만인 경우 B급, 10 $\mu$ g 미만인 경우 C급, 100 $\mu$ g 미만인 경우 D급, 100 $\mu$ g 이상일 때 E급으로 분류하였다. 항혈액응고작용을 검색한 결과 A급 2종(0.99% 점유), B급 23종(11.39%), C급 37종(18.32%), D급 14종(6.37%), 나머지는 E급으로 62% 이었다.

다) 항혈액응고 물질을 분리하기 위하여 먼저 A급 2종에 대하여 용매분획을 실시한 결과 유기용매층으로 이행되지 않고 수층에 저해활성이 잔존하였다. 수층의 유효성분은 탄닌, 폴리페놀성 물질이거나 또는 공기 중 산소에 의해 쉽게 활성이 소실되는 물질로 추정하였다.

라) 식물채집이 원활한 16종의 식물에 대해 용매분획을 실시하고 유기용매층에 생물활성이 이행되는 검체 중에서 YK96084로부터 강력한 TF 저해활성 물질인 compound I (IC<sub>50</sub>/TF unit, 0.078 $\mu$ g)을 분리하였다. 화학구조를 결정한 결과 2-(ethylamino)ethanol임을 동정하였다.

## 2. 항암활성 효과검정 및 물질개발

가) 강력한 항암효과를 보여주는 일본목련 (*Magnolia obovata*)의 줄기껍질추출물로부터 유효성분 즉 항암성 물질의 분리를 시도하였다. 즉 A549외 4종의 human tumor

cell line에 대한 실험관 내 세포성장저해효과를효과 (SRB법)를 지표로 하여 활성유도분획법 (activity-guided fractionation)에 준하여 유효성분들을 추적한 결과 처음 시료로 사용한 일본목련 (*Magnolia obovata*)의 줄기껍질추출물의 항암효과에 비하여 약 100배정도 탁월한 효과를 보여주는 magnolol을 비롯한 활성성분물질 6종을 최종 분리하였다.

나) 증산국수나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질추출물로부터도 동일한 방법으로 유효성분들을 추적한 결과 처음 시료로 사용한 증산국수나무(*Physocarpus intermedius*)의 줄기껍질추출물의 항암효과에 비하여 약 100배정도 탁월한 효과를 보여주는 활성성분물질 7 종을 순수 분리하여 이들의 화학구조를 완전히 규명하였다.

다) 함박꽃나무 (*Magnolia sieboldii*)의 줄기껍질추출물에 대하여서는 이제껏 본 연구진이 주로 활용하여온 human tumor cell line에 대한 실험관 내 세포성장 저해효과 (SRB법)를 지표로 하는 항암효과 평가법 이외에 새로이 확립한 Ras farnesyltransferase 활성저해효과를 지표로 활용한 항암활성 평가법을 활용하여 활성유도분획법 (activity-guided fractionation)에 준하여 유효성분들을 추적한 결과 처음 시료로 사용한 함박꽃나무 (*Magnolia sieboldii*)의 줄기껍질추출물의 효소활성 저해효과에 비하여 약 100배 정도 탁월한 효과를 보여주는 활성성분물질 1종을 순수 분리하여 그 화학구조를 규명할 수 있었으며 아울러 이 활성성분 이외 기타 활성물질들을 추적분리 중에 있다.

라) 또 다른 자원인 국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.)의 줄기껍질추출물로부터 유효성분 즉 항암성 물질의 분리를 시도한 결과 국수나무 (*Stephanandra incisa* Thunb.)의 줄기껍질추출물의 항암효과에 비하여 약 50배정도 탁월한 효과를 보여주는 활성성분물질 2 종을 순수분리 하였으며 현재 기타 활성물질들을 분리 중에 있다.

마) 또 다른 시료, 플라타너스나무 (*Platanus acerifolia* Willd.)의 줄기껍질추출물에 대하여서도 활성유도 분획법 (activity-guided fractionation)에 준하여 유효성분들을 추적한 결과 처음 시료로 사용한 플라타너스나무 (*Platanus acerifolia* Willd.)의 줄기껍질추출물의 *in vitro* cytotoxicity에 비하여 약 40배 정도 탁월한 세포증식 저해효과를 보여주는 활성성분물질 3종을 순수 분리하여 현재 그 화학구조를 규명 중에 있으며 아울러 이 활성성분 이외 기타 활성물질들을 추적분리 중에 있다.

### 3. 항바이러스 약효평가

가) 우리 나라 수목자원들에 대한 항바이러스 약효를 평가하였다. 모든 시료에 대하여 Vero세포체계에서 HSV-1과 HSV-2에 대한 *in vitro* 항바이러스효과와 시료자체의 세포에 대한 독성을 CPE저해법을 이용하여 함께 조사하였다.

나) AIDS치료제 개발 후보물질 발견을 위하여 항HIV약효검색을 수행하였으며, 다른 광범위 효과를 관찰하기 위하여 HeLa 세포체계에서 RNA virus 인 PV-1, CoxB3와 VSV에 대한 약효검색도 CPE저해법을 이용하여 수행되었다.

다) 특정 바이러스에 대하여 뚜렷한 약효를 나타내는 것은 아직 발견되지 않았다. 시료들 중에서 비교적 항 HSV약효를 나타냈던 시료들에 대한 재확인 실험을 실시하였다. 약효를 나타내는 농도가 꽤 높지만, 그래도 YK96069, YK96077, YK97047, YK97058, YK97076 은 분리정제를 더 해보아  $EC_{50}$ 값을 낮추어 selectivity index가 증가하는지를 조사해볼 가치가 있지 않을까 여겨진다.

라) 항HIV를 조금이라도 나타낸 시료들 중 YK97016도 분리정제를 더 해볼 가치가 있지 않을까 사료된다. 일반적으로 수목추출성분의 시료는 독성이 있다가 사라지는 농도에서까지 항바이러스 약효를 나타내는 시료 수가 초본 시료에 비해서 많으며, 특히 HSV에서 더욱 뚜렷한 효과를 보이고 있다. 이런 시료의 약효는 더 계속할 가치가 높지 않지만, 풀과 다른 나무시료에서 공통적으로 발견할 수 있는 물질일 수도 있기 때문에, 기초 연구로서 연구할 가치가 있지 않을까 생각된다.

최종결론은 위에 명시한 시료들에 대하여 항바이러스 효과여부를 좀 더 조사하여 개발가치 여부를 확인하여야 할 것으로 판단된다.

## 제 2 절 활용에 대한 건의

본 연구는 한국산 수목 181종에 대한 항암, 항혈액응고, 그리고 항바이러스에 대한 효과를 검정하고, 이들로부터 유효성분을 단리하기 위하여 실시되었다. 지금까지의 연구를 활용하기 위한 방안을 요약하면 다음과 같다.

1. 항암활성 검정자료를 근거로 유효성분의 분리연구분야,

2. 항혈액응고인자 검색에서 B급, C급, 그리고 D급으로 분류된 추출성분에서 유효성분의 분리,
3. 항바이러스 약효검색에서 어느 정도 활성을 나타내는 YK96069, YK96077, YK97016, YK97047, YK97058, 그리고 YK97076에서 유효성분의 분리와 마지막으로
4. 본 연구를 통하여 특정수목에 다량 함유되어 있는 것으로 밝혀진 고가의 betulinic acid, ursolic acid, 그리고 lignan 류나 alkaloid 류의 생산기술연구를 통한 산업화 방안 등에 활용할 수 있을 것으로 기대된다

## 부록(Appendix)

YK94001 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	58.89	31.45
50.00	12.54	-40.42
100.00	-90.27	-98.12
200.00	-87.47	-99.13

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	43.96
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>43.96	>43.96		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	37.47
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>37.47	>37.47		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94002 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	82.01	72.56
50.00	22.84	-40.37
100.00	-56.14	-94.69
200.00	-41.97	-96.98

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	46.2
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>46.2	>46.2		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	83.03
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>83.03	>83.03		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94003 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	34.36	6.38
50.00	16.33	1.25
100.00	14.97	-31.85
200.00	-15.75	-81.32

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	11.08
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>11.08	>11.08		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	134.74
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>134.74	>134.74		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	0.3

YK94004 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	61.70	46.19
50.00	7.00	-71.88
100.00	-82.00	-98.26
200.00	-66.73	-98.76

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>45.5	>45.5	45.5	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>46.33	>46.33	46.33	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94006 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	22.10	16.58
50.00	-9.67	-57.00
100.00	-88.02	-97.98
200.00	-61.80	-98.63

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>45.8	>45.8	45.8	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>35.71	>35.71	35.71	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	2.00

YK94007 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	-17.52	7.09
50.00	-14.05	-43.30
100.00	-0.79	-67.82
200.00	-38.38	-88.46

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>1.63	>1.63	1.63	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>40.19	>40.19	40.19	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	2.00

## YK94008 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	91.59	103.28
50.00	78.27	96.22
100.00	74.36	87.25
200.00	53.45	50.71

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>46.2	>46.2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	46.2

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>53.27	>53.27	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	53.27

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC <sub>50</sub> /TF unit (ug)	>100

## YK94009 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	95.60	95.14
50.00	87.88	71.69
100.00	50.30	-93.86
200.00	8.35	-85.89

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	>100	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>172.64	>172.64	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	172.64

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC <sub>50</sub> /TF unit (ug)	1.09

## YK94010 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	89.69	79.02
50.00	20.38	-26.54
100.00	-69.59	-97.02
200.00	-50.61	-96.79

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>45.1	>45.1	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	45.1

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>61.96	>61.96	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	61.96

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC <sub>50</sub> /TF unit (ug)	0.3

YK94011 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	13.70	8.71
50.00	-32.48	-46.97
100.00	-92.94	-98.90
200.00	-82.66	-98.99

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>43.34	>43.34	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	43.34

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>28.6	>28.6	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	28.6

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94012 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	0.92	-85.02
50.00	1.12	-86.67
100.00	7.14	-75.13
200.00	-15.88	-61.35

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>1.82	>1.82	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	1.82

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>7.677	>7.677	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	7.677

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	0.35

YK94013 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	12.20	-25.99
50.00	-48.66	-91.44
100.00	-84.25	-98.58
200.00	-58.82	-98.86

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>44.34	>44.34	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	44.34

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>37.24	>37.24	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	37.24

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94014 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	66.87	63.47
50.00	12.40	8.25
100.00	-73.36	-96.52
200.00	-73.05	-97.89

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>53.2	>53.2	53.2	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>73.95	>73.95	73.95	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	
	>100

YK94017 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	59.95	20.29
50.00	3.63	-76.14
100.00	-93.31	-97.62
200.00	-80.05	-97.11

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>45.11	>45.11	45.11	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>68.39	>68.39	68.39	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	
	10.5

YK94018 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	95.89	96.25
50.00	75.51	74.98
100.00	23.08	21.68
200.00	-21.84	-84.89

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>39.51	>39.51	39.51	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>71.63	>71.63	71.63	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	
	>100

## YK94019 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	54.91	60.89
50.00	16.63	-39.27
100.00	-19.71	-69.22
200.00	-69.04	-95.15

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>46.66	>46.66	46.66	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>68.5	>68.5	68.5	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC <sub>50</sub> /TF unit (ug)	
	>100

## YK94020 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	0.25	-80.63
50.00	-5.29	-75.32
100.00	-93.92	-97.07
200.00	63.56	-96.43

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CT	CT	CT	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	<3.7	<3.7	<3.7	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC <sub>50</sub> /TF unit (ug)	
	0.24

## YK94021 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)	
CONC. (ug/ml)	A549	HCT15
25.00	33.77	15.12
50.00	-17.52	-77.51
100.00	-72.69	-98.12
200.00	-71.78	-98.21

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>41.42	>41.42	41.42	

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>53.53	>53.53	53.53	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC <sub>50</sub> /TF unit (ug)	
	>100

## YK94022 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	83.85	88.26
50.00	39.52	6.30
100.00	-12.65	-59.10
200.00	-75.49	-91.07

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>46.7	>46.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	46.7

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>70.87	>70.87	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	70.87

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	0.28

## YK94023 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	98.27	97.91
50.00	91.71	89.01
100.00	73.43	59.82
200.00	21.16	-9.69

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	>100	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	261	>294.70	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	294.7

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	1.59

## YK94024 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	7.86	-73.90
50.00	0.36	-56.86
100.00	0.23	-89.51
200.00	-89.23	-99.68

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>8.79	>8.79	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	8.79

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>19.76	>19.76	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	19.76

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK94025 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	98.18	94.09
50.00	90.98	75.77
100.00	52.64	-37.21
200.00	3.03	-68.22

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	>100	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>153.58	>153.58	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	153.58

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	0.25

## YK94026 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)	
	A549	HCT15
25.00	58.79	77.88
50.00	5.89	-8.13
100.00	28.35	-91.53
200.00	-82.73	-97.94

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>46.65	>46.65	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	46.65

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>63.66	>63.66	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	63.66

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	2.5

## YK94027 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)				
	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
12.50	82.87	77.45	83.73	88.19	82.31
25.00	74.90	70.62	74.00	85.72	73.88
50.00	59.33	51.33	55.47	69.35	47.90
100.00	28.22	10.11	22.19	46.16	2.23

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>45.12	>45.12	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	45.12

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>114.11	>114.11	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	114.11

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	0.25

YK94029 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity		Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15	
12.50	93.31	96.84	86.13	99.66	67.81	
25.00	76.23	90.71	65.72	100.24	29.57	
50.00	34.28	67.67	89.18	66.87	-18.56	
100.00	4.35	-14.89	-66.24	-18.46	-63.79	

Antiviral Activity			
Virus	HIV-1	HIV-2	
Strain	IIIB	CBL20	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	>100	Cytotoxicity
			CC <sub>50</sub> (ug/ml) >100

Antiviral Activity			
Virus	HSV-1	HSV-2	
Strain	F	MS	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>52.77	>52.77	Cytotoxicity
			CC <sub>50</sub> (ug/ml) 52.77

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94030 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity		Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15	
25.00	82.69	85.53	83.53	84.21	86.98	
50.00	66.57	75.69	62.13	72.20	55.04	
100.00	38.75	62.37	31.73	49.24	-7.39	
200.00	9.52	14.03	5.96	13.03	-60.25	

Antiviral Activity			
Virus	HIV-1	HIV-2	
Strain	IIIB	CBL20	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	>100	Cytotoxicity
			CC <sub>50</sub> (ug/ml) >100

Antiviral Activity			
Virus	HSV-1	HSV-2	
Strain	F	MS	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>157.09	>157.09	Cytotoxicity
			CC <sub>50</sub> (ug/ml) >157.09

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	1.17

YK94031 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity		Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15	
12.50	61.63	90.57	67.10	73.01	56.65	
25.00	22.73	36.20	21.21	23.37	8.99	
50.00	-16.71	-8.44	-84.91	-63.68	-82.80	
100.00	-84.18	-98.43	-88.75	-96.11	-98.06	

Antiviral Activity			
Virus	HIV-1	HIV-2	
Strain	IIIB	CBL20	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>45.85	>45.85	Cytotoxicity
			CC <sub>50</sub> (ug/ml) 45.85

Antiviral Activity			
Virus	HSV-1	HSV-2	
Strain	F	MS	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>50.94	>50.94	Cytotoxicity
			CC <sub>50</sub> (ug/ml) 50.94

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94032 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
12.50	88.40	96.85	91.20	98.88	89.75
25.00	73.81	92.06	74.46	89.59	74.98
50.00	49.10	82.00	54.31	67.56	50.63
100.00	17.37	33.30	14.87	27.36	-15.09

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>47.96	>47.96	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	47.96

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>88.91	>88.91	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	88.91

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94033 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
12.50	101.64	93.68	99.86	98.16	98.44
25.00	93.90	88.14	100.41	97.95	106.24
50.00	91.93	86.62	90.45	92.50	87.82
100.00	82.44	77.44	72.54	87.23	75.11

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	>100	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94034 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
12.50	67.29	71.13	42.06	72.84	67.21
25.00	39.40	33.32	20.08	49.36	45.62
50.00	10.27	-19.39	-42.29	3.24	-2.12
100.00	-9.81	-52.46	-59.89	-32.12	-57.47

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>8.83	>8.83	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	8.83

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>156.77	>156.77	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	156.77

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94035 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
12.50	61.49	82.55	46.38	56.29	67.40
25.00	50.85	68.09	38.76	47.82	59.16
50.00	40.92	39.19	31.11	39.68	53.89
100.00	29.36	18.85	10.92	23.68	48.28

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>9.88	>9.88	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	9.88

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94036 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
12.50	94.01	90.34	74.80	76.80	88.66
25.00	75.49	84.77	57.24	63.83	90.11
50.00	62.96	67.32	44.81	54.52	71.65
100.00	49.46	49.80	40.51	44.80	65.25

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>20.08	>20.08	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	20.08

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94037 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	102.17	92.94	99.53	102.19	96.00
50.00	98.79	96.64	102.95	100.74	94.65
100.00	93.52	89.81	83.67	97.22	94.10
200.00	88.02	83.72	72.28	91.90	97.98

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	>100	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK94038 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	81.53	89.89	91.40	96.73	97.36
50.00	81.56	86.03	86.48	91.72	78.25
100.00	70.54	81.88	73.52	90.07	75.21
200.00	59.24	76.66	50.75	74.53	70.63

Antiviral Activity				Cytotoxicity	
Virus	HIV-1	HIV-2			
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	>100	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>100	

Antiviral Activity				Cytotoxicity	
Virus	HSV-1	HSV-2			
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96057 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	75.36	77.39	62.41	40.19	79.30
50.00	57.32	58.92	29.78	10.33	40.25
100.00	16.91	12.23	23.78	-40.77	10.08
200.00	-57.53	-6.99	-38.31	-64.49	-37.26

Antiviral Activity				Cytotoxicity	
Virus	HIV-1	HIV-2			
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>41.4	>41.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	41.4	

Antiviral Activity				Cytotoxicity	
Virus	HSV-1	HSV-2			
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>208.42	>208.42	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	208.42	

Antiviral activity				Cytotoxicity	
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV		
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	235.82	255.27	76.892	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK96058 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
50.00	66.37	71.46	30.13	20.10	68.21
100.00	29.00	32.19	11.59	-37.09	29.38
200.00	-20.28	-1.33	-31.56	-65.57	-15.63

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>28.6	>28.6	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	28.6

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>294.88	>294.88	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	294.88

Antiviral activity				
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	
Strain	BH	Nancy	indiana	Cytotoxicity
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	268.67	281.62	171.75	CC <sub>50</sub> (ug/ml) >300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK96060 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
50.00	59.27	82.02	79.32	56.78	63.27
100.00	7.39	55.44	58.13	12.42	16.73
200.00	-49.65	8.49	-2.91	-33.52	-0.92

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>75.2	>75.2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	75.2

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity				
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	
Strain	BH	Nancy	indiana	Cytotoxicity
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	200.98	CC <sub>50</sub> (ug/ml) >300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96061 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	84.88	90.97	88.99	88.70	89.68
50.00	70.24	69.57	78.84	71.52	87.30
100.00	54.11	43.22	60.65	54.52	66.73
200.00	13.91	0.10	-16.96	5.92	17.76

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	25.6
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>25.6	>25.6		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	270.2		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96062 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	56.54	-1.79	38.17	48.44	24.38
50.00	13.56	-25.68	-39.83	-10.89	-47.40
100.00	-21.61	-44.95	-80.17	-32.03	-94.16
200.00	-56.66	-94.11	-92.10	-63.75	-96.15

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	25.17
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>25.17	>25.17		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	170.39
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>170.39	>170.39		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK96066 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	85.35	94.41	89.75	56.73	96.71
50.00	36.00	-16.68	44.11	-19.44	42.69
100.00	-48.52	-92.95	-72.11	-92.31	-94.45
200.00	-59.99	-95.60	-71.76	-94.37	-97.27

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>40.7	>40.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	40.7	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>43.78	>43.78	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	43.78	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>61.82	>61.82	>61.82	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	61.819

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/ unit (ug/ TF unit)	25.00

## YK96067 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	45.74	56.10	52.86	41.86	20.05
50.00	30.42	41.93	39.54	33.58	23.58
100.00	18.73	35.75	21.33	7.25	16.36
200.00	7.16	16.25	-1.80	-17.06	9.10

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>57	>57	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	57	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>269.1	>269.1	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	269.1	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>32.93	>32.93	>32.93	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	32.93

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK96068 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	70.78	77.36	93.48	69.69	52.52
50.00	45.67	49.15	68.13	43.46	11.61
100.00	17.61	16.54	13.81	8.98	-21.28
200.00	-26.21	2.81	-14.73	-29.30	-24.01

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	83.4
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>83.4	>83.4		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	129.7
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>129.7	>129.7		

Antiviral activity					
Virus	Pollo-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	264.1
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>264.1	>264.1	>264.1		

Tissue Factor Inhibitory Activities					
IC50/ unit (ug/ TF unit)	0.50				
Fraction	Hexane	Chloroform	Ethyl Acetate	Butanol	Water
IC50/TF unit	-	3.67	0.652	0.761	1.522

## YK96069 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	77.26	56.29	83.05	80.16	89.47
50.00	39.10	41.12	32.15	47.31	40.67
100.00	2.46	-21.45	-6.98	-15.12	7.27
200.00	-39.36	-34.81	-24.16	-25.51	-66.54

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	19.4
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>19.4	>19.4		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	199.4
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>199.4	>199.4		

Antiviral activity					
Virus	Pollo-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	21.226	28.117	81.841		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96070 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	91.63	102.68	88.49	95.13	108.34
50.00	83.80	102.44	86.15	95.98	100.99
100.00	62.04	104.88	79.60	81.35	87.70
200.00	30.63	67.78	50.74	38.04	42.76

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>83.4	>83.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	83.4

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity				
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	
Strain	BH	Nancy	indiana	Cytotoxicity
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml) >300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/ unit (ug/ TF unit)	15.00

YK96071 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	92.00	100.29	92.46	100.97	101.06
50.00	84.11	98.43	85.73	98.79	94.06
100.00	74.44	105.75	80.48	80.80	87.61
200.00	41.60	55.47	36.05	30.41	59.60

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>69.4	>69.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	69.4

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>169.3	>169.3	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	163.9

Antiviral activity				
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	
Strain	BH	Nancy	indiana	Cytotoxicity
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml) >300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96072 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	80.62	100.13	79.08	82.04	89.78
50.00	32.39	41.88	14.30	33.12	57.40
100.00	2.98	5.66	0.02	0.06	4.53
200.00	-1.75	-1.91	-55.64	-6.78	-26.76

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	27.2
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>27.2	>27.2		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	266.5
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>266.5	>266.5		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	58.488
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>58.49	>58.49	>58.49		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/ unit (ug/ TF unit)	10.00

YK96073 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	88.40	103.98	87.29	95.86	96.89
50.00	73.90	107.23	79.86	84.15	56.92
100.00	34.95	64.65	51.22	44.41	3.12
200.00	2.21	-2.08	-1.95	-23.04	-42.15

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	84.2
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>84.2	>84.2		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	175.6
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>175.6	>175.6		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>137.62
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>134.62	>134.62	>134.62		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96074 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	86.87	82.31	100.79	94.95	100.95
50.00	70.88	78.38	89.36	81.78	94.67
100.00	45.82	74.95	68.83	31.60	58.17
200.00	6.13	26.01	-12.66	13.21	5.24

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	37.3
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>37.3	>37.3		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	246.3		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	195.49		

Tissue Factor Inhibitory Activities					
IC50/ unit (ug/ TF unit)	20.00				
Fraction	Hexane	Chloroform	Ethyl Acetate	Butanol	Water
IC50/TF unit	-	3.33	3.81	0.857	3.143

YK96075 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	91.71	104.64	89.37	98.59	103.55
50.00	77.32	101.25	79.81	94.07	97.01
100.00	50.71	93.79	69.66	63.44	55.63
200.00	9.43	25.86	-10.69	12.51	18.87

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	97.8
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>97.8	>97.8		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	238.69	>300.00	165.5		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK96076 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT115
25.00	79.56	105.74	90.00	101.20	104.34
50.00	63.54	105.64	87.24	93.23	89.19
100.00	42.85	107.61	78.31	83.36	81.35
200.00	17.57	54.05	34.21	33.82	37.67

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	88.7
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>88.7	>88.7		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	214.37		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK96077 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT115
25.00	57.09	61.46	17.76	35.90	15.63
50.00	31.24	22.97	-17.99	3.41	-15.48
100.00	7.60	-7.44	-34.87	-30.73	-58.70
200.00	-31.20	-32.83	-40.14	-42.65	-64.97

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	2.13
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>2.13	>2.13		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	239.8
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	86.21	>239.8		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	242.69
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	26.58	28.446	11.031		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96078 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	92.92	100.89	95.66	97.04	100.68
50.00	90.98	97.12	84.95	92.77	93.39
100.00	79.39	89.88	67.10	83.43	33.67
200.00	6.56	30.55	17.22	48.44	-85.88

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>38.2	>38.2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	38.2

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96079 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	64.68	64.74	48.21	54.42	97.37
50.00	52.91	55.06	35.78	41.56	90.76
100.00	39.97	37.98	25.51	26.14	80.17
200.00	23.52	9.99	15.69	7.52	55.27

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>5.63	>5.63	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	5.63

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>59.13	>59.13	>59.13	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	59.126

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96080 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	89.53	104.91	90.91	92.72	98.33
50.00	83.55	101.26	75.02	79.62	96.93
100.00	57.20	81.98	59.42	57.33	87.14
200.00	25.33	54.40	23.98	29.20	52.87

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>25.3	>25.3	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	25.3

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>207.21	>207.21	>207.21	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	207.21

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96081 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	94.44	103.98	90.00	97.95	101.91
50.00	88.58	100.38	89.46	92.03	89.90
100.00	68.12	98.63	84.07	82.60	85.86
200.00	36.05	78.78	50.55	49.23	62.97

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>120.5	>120.5	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	120.5

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96082 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	89.63	91.42	92.46	85.42	83.48
50.00	83.18	82.32	66.72	19.32	82.96
100.00	56.04	82.62	71.12	72.40	72.47
200.00	25.67	37.72	-8.89	12.10	-35.87

Antiviral Activity				Cytotoxicity	
Virus	HIV-1	HIV-2			
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>119.9	>119.9	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	119.9	

Antiviral Activity				Cytotoxicity	
Virus	HSV-1	HSV-2			
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>213.7	>213.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	213.7	

Antiviral activity				Cytotoxicity	
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV		
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities					
IC50/ unit (ug/ TF unit)					
Fraction	Hexane	Chloroform	Ethyl Acetate	Butanol	Water
IC50/TF unit	-	3.00	5.22	2.83	2.00

YK96083 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	93.44	100.08	97.30	99.69	105.35
50.00	82.49	94.65	98.32	101.79	96.81
100.00	71.01	96.64	90.79	92.11	99.77
200.00	55.03	91.66	92.74	58.99	74.22

Antiviral Activity				Cytotoxicity	
Virus	HIV-1	HIV-2			
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>91.4	>91.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	91.4	

Antiviral Activity				Cytotoxicity	
Virus	HSV-1	HSV-2			
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	

Antiviral activity				Cytotoxicity	
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV		
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	
>100	

YK96084 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	55.27	63.54	87.39	67.92	75.69
50.00	33.16	48.35	41.33	32.90	55.33
100.00	18.90	45.77	15.58	-4.85	30.52
200.00	2.89	35.07	-45.41	-4.32	-26.29

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1		HIV-2		
Strain	IIIIB	CBL20	Cytotoxicity		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>20.4	>20.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	20.4	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1		HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>56.05	>56.05	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	56.05	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV		
Strain	BH	Nancy	Indiana	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>259.93	>259.93	>259.93	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	259.93

Tissue Factor Inhibitory Activities					
IC50/ unit (ug/ TF unit)					
Fraction	Hexane	Chloroform	Ethyl Acetate	Butanol	Water
IC50/TF unit	-	-	0.21	0.17	1.10

YK96085 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	104.15	100.05	106.84	104.69	101.32
50.00	96.81	94.15	96.89	101.21	95.76
100.00	86.81	88.30	83.39	84.17	75.82
200.00	50.96	46.34	26.94	41.58	43.21

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1		HIV-2		
Strain	IIIIB	CBL20	Cytotoxicity		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>61.8	>61.8	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	61.8	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1		HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV		
Strain	BH	Nancy	Indiana	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	242.52	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	
	>100

YK96086 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	102.36	105.14	101.82	105.33	103.50
50.00	97.35	104.52	98.75	103.31	100.33
100.00	87.44	85.47	54.26	56.96	86.34
200.00	59.21	-26.83	26.35	41.99	26.84

Antiviral Activity			Cytotoxicity	
Virus	HIV-1	HIV-2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	126.1
Strain	IIIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>126.1	>126.1		

Antiviral Activity			Cytotoxicity	
Virus	HSV-1	HSV-2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		

Antiviral activity			Cytotoxicity	
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
Strain	BH	Nancy	Indiana	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC <sub>50</sub> /TF unit (ug)	>100

YK96087 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	71.77	41.72	92.19	61.72	73.20
50.00	10.14	23.50	32.03	18.34	-43.68
100.00	-41.83	-19.21	-3.36	-9.33	-57.51
200.00	-36.10	-51.43	-61.20	-69.02	-91.61

Antiviral Activity			Cytotoxicity	
Virus	HIV-1	HIV-2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	21.7
Strain	IIIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>21.7	>21.7		

Antiviral Activity			Cytotoxicity	
Virus	HSV-1	HSV-2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	78.86
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>78.86	>78.86		

Antiviral activity			Cytotoxicity	
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
Strain	BH	Nancy	Indiana	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC <sub>50</sub> / unit (ug/ TF unit)	6.00

YK96088 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	105.16	13.98	98.89	104.65	101.09
50.00	100.88	107.63	92.45	97.51	80.04
100.00	84.30	93.91	80.17	66.75	3.00
200.00	35.82	43.91	26.03	25.97	-33.14

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2			
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>122.3	>122.3	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	122.3	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2			
Strain	F	MS	Cytotoxicity		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV		
Strain	BH	Nancy	Indiana	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96089 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	104.73	102.13	97.50	95.78	94.97
50.00	101.73	101.59	94.30	99.79	91.81
100.00	94.74	90.38	80.19	89.59	85.72
200.00	81.68	80.47	55.52	68.87	61.65

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2			
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>141.2	>141.2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	141.2	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2			
Strain	F	MS	Cytotoxicity		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV		
Strain	BH	Nancy	Indiana	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96090 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	72.87	68.90	79.89	64.70	36.38
50.00	27.62	33.96	51.13	28.78	-77.33
100.00	15.67	13.60	12.17	13.16	-65.63
200.00	0.68	-8.73	-35.75	-3.59	-62.06

Antiviral Activity			Cytotoxicity	
Virus	HIV-1	HIV-2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	22.2
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>22.2	>22.2		

Antiviral Activity			Cytotoxicity	
Virus	HSV-1	HSV-2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	113.1
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>113.1	>113.1		

Antiviral activity			Cytotoxicity		
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	194.26
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>194.26	>194.26	>194.26		

Tissue Factor inhibitory Activities					
IC50/ TF unit (ug)		4.50			
Fraction	Hexane	Chloroform	Ethyl Acetate	Butanol	Water
IC50/TF unit	7.33	12.33	0.39	0.36	0.65

YK96091 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	81.75	90.90	79.28	73.87	-31.98
50.00	50.77	73.35	59.93	41.89	-46.26
100.00	19.22	29.66	25.73	16.91	-68.40
200.00	8.42	5.17	-2.56	2.85	-54.74

Antiviral Activity			Cytotoxicity	
Virus	HIV-1	HIV-2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	25.2
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>25.2	>25.2		

Antiviral Activity			Cytotoxicity	
Virus	HSV-1	HSV-2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	170.3
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>170.3	>170.3		

Antiviral activity			Cytotoxicity		
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	291.78
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>291.78	>291.78	>291.78		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/ TF unit (ug)	
1.00	

YK96092 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	92.44	90.03	86.08	89.38	68.09
50.00	71.42	66.25	65.09	53.03	-13.33
100.00	33.09	36.01	13.93	25.63	-11.54
200.00	6.40	-22.38	-45.63	1.91	-36.00

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	22.8
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>22.8	>22.8		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	178
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>178	>178		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	127.31
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>127.31	>127.31	>127.31		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/ TF unit (ug)	0.40

YK96093 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	99.54	84.83	87.70	102.05	94.10
50.00	96.19	87.63	90.26	95.11	97.65
100.00	94.41	80.34	84.06	87.58	90.10
200.00	84.18	68.55	72.98	69.60	71.11

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	99
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>99	>99		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	>300		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96094 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	100.42	98.37	102.91	91.52	103.01
50.00	99.24	100.06	107.35	92.57	100.70
100.00	99.96	90.83	95.82	82.80	84.51
200.00	90.76	83.29	80.23	49.94	70.22

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>34.4	>34.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	34.4

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	>300	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96095 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	95.20	93.03	90.34	105.86	101.26
50.00	99.39	92.63	93.26	100.44	99.77
100.00	100.61	89.35	85.85	86.13	95.42
200.00	67.24	35.54	42.54	53.01	59.31

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>74.8	8.74	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	74.8

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	255.9	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities					
IC50/ TF unit (ug)					
Fraction	Hexane	Chloroform	Ethyl Acetate	Butanol	Water
IC50/TF unit	22.67	2.61	1.38	0.43	1.69

YK96096 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth.%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	97.16	107.10	99.10	103.88	96.39
50.00	101.71	102.17	99.69	107.73	101.90
100.00	98.14	93.43	90.90	95.48	85.54
200.00	51.49	33.58	55.68	40.14	30.57

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>107.5	>107.5	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	107.5

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>264.9	>264.9	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	264.9

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>157.17	>157.17	>157.17	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	157.17

Tissue Factor Inhibitory Activities					
IC50/ TF unit (ug)					
Fraction	Hexane	Chloroform	Ethyl Acetate	Butanol	Water
IC50/TF unit	5.33	0.43	8.75	0.81	0.56

YK96097 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth.%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	105.15	103.76	95.78	105.17	101.96
50.00	106.64	97.62	94.30	106.14	102.78
100.00	101.46	95.45	85.61	100.50	95.61
200.00	85.30	84.55	74.00	83.34	77.82

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>152.7	>152.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	152.7

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	>300	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	
	>100

YK96098 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	101.76	91.54	97.75	106.24	91.67
50.00	101.07	91.32	93.91	101.69	96.14
100.00	95.09	80.81	91.58	92.67	81.98
200.00	52.95	36.67	59.35	48.12	41.05

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	122.3
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>122.3	>122.3		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	227.5	211.3		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	174.74
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>174.74	>174.74	>174.74		

Tissue Factor Inhibitory Activities					
IC50/ TF unit (ug)		0.85			
Fraction	Hexane	Chloroform	Ethyl Acetate	Butanol	Water
IC50/TF unit	-	6.67	1.963 S 3.548 P	0.71	1.42

S= Ethyl Acetate soluble  
P=Precipitate

YK96099 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	105.16	90.88	89.16	99.02	100.83
50.00	104.31	93.25	81.59	96.03	101.42
100.00	82.91	89.63	68.83	85.94	97.19
200.00	83.19	63.89	43.73	61.61	58.14

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	92.5
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>92.5	>92.5		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	216.8	234		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	248.75
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>248.75	>248.75	>248.75		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/ TF unit (ug)	1.00

YK96100 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	94.95	81.02	70.61	84.15	86.41
50.00	64.65	43.87	35.76	34.87	-29.30
100.00	15.07	15.64	7.65	6.20	-25.73
200.00	0.84	-0.95	-28.72	-66.84	-94.29

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>59.6	>59.6	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	59.6

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>198.8	>198.8	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	198.8

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>154.49	>154.49	>154.49	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	154.49

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/ TF unit (ug)	1.50

YK96101 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	106.81	91.74	107.99	95.96	107.19
50.00	103.90	89.76	96.87	97.53	106.75
100.00	101.21	85.96	88.62	86.59	103.05
200.00	92.18	64.02	50.05	68.26	65.73

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>97	>97	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	97

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	222	173	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>236.28	>236.28	>236.28	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	236.28

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96102 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	66.84	-32.54	-65.65	-48.45	94.73
50.00	11.68	-91.75	-66.18	-87.11	80.38
100.00	-9.26	-94.60	-65.29	-88.92	66.20
200.00	-54.16	-98.41	-70.01	-92.99	57.31

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	14
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>14	>14		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	120.5
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>120.5	>120.5		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96103 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	26.82	36.13	19.37	22.48	25.21
50.00	-55.48	-94.80	-89.45	-84.71	-97.39
100.00	-93.19	-98.36	-91.05	-99.08	-97.65
200.00	-93.77	-98.36	-93.23	-98.62	-97.65

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	82.8
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>82.8	>82.8		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	>300		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96104 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity		Cells (Net Growth,%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15	
25.00	62.05	18.13	10.85	25.57	37.98	
50.00	9.37	-86.85	-86.23	-74.17	-60.33	
100.00	-86.62	-98.63	-92.43	-98.51	-98.43	
200.00	-92.16	-99.18	-92.08	-99.08	-98.70	

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>32.1	>32.1	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	32.1	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>163.8	>163.8	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	163.8	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>170.43	>170.43	>170.43	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	170.43

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96105 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity		Cells (Net Growth,%)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15	
25.00	88.30	48.62	24.18	64.39	87.21	
50.00	19.02	5.70	-45.62	-30.11	7.23	
100.00	-90.31	-96.99	-90.02	-98.39	-99.74	
200.00	-95.16	-98.36	-93.92	-99.66	-98.43	

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>23.5	>23.5	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	23.5	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	43.7	43.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	43.7	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>33.22	>33.22	>33.22	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	33.217

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96106 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	103.69	89.61	84.76	90.67	105.11
50.00	99.87	74.32	40.76	87.56	96.19
100.00	65.62	21.45	6.12	42.11	65.23
200.00	7.30	-68.78	-72.47	-68.85	-3.17

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>106.3	>106.3	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	106.3

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	65	65	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	170.4

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>183.03	>183.03	>183.03	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	183.03

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96107 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	99.53	98.47	87.48	89.94	98.03
50.00	72.80	72.51	78.74	83.38	79.56
100.00	38.56	33.40	43.69	40.34	37.64
200.00	7.16	13.79	-25.46	12.33	5.05

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>64	>64	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	64

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>257	>257	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	257

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK96108 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	98.33	101.53	94.46	102.34	101.88
50.00	103.62	102.16	94.59	106.72	82.10
100.00	85.66	69.63	70.43	80.64	26.17
200.00	24.45	16.08	11.84	14.56	-62.98

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>73.1	>73.1	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	73.1	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>258	>258	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	258	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>132.93	>132.93	>132.93	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	132.93

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

## YK96109 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	99.22	88.42	90.32	96.52	100.52
50.00	86.63	84.29	78.10	75.42	84.87
100.00	45.95	56.15	58.96	41.09	51.50
200.00	7.31	6.68	-0.12	5.08	16.62

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>91.9	>91.9	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	91.9	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	>300	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	241.09	256.69	215.88	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96110 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	91.57	92.08	96.57	86.85	88.02
50.00	66.49	61.66	82.32	71.97	67.89
100.00	28.92	26.33	53.49	41.50	35.96
200.00	-8.25	6.80	13.21	5.73	15.24

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>23.8	>23.8	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	23.8

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>161.6	>161.6	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	161.6

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96111 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	96.83	94.94	92.45	97.34	106.51
50.00	89.24	86.53	81.73	96.56	97.00
100.00	94.76	69.80	21.64	82.96	65.26
200.00	48.75	10.78	-51.09	25.59	-18.45

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>31	>31	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	31

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	>300	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96112 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	90.56	94.17	91.59	93.52	81.89
50.00	74.23	76.86	82.14	77.51	70.74
100.00	43.84	34.20	54.32	45.69	42.10
200.00	8.01	10.68	15.72	12.65	14.84

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>80	>80	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	80	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>271.9	>271.9	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	271.9	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96113 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	97.33	81.13	95.84	82.52	92.77
50.00	85.62	74.94	83.29	47.41	68.55
100.00	49.57	41.70	35.60	-6.23	33.12
200.00	-76.15	-82.76	-90.68	-86.57	-68.04

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	0.5	0.5	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	50	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>134.4	>134.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	134.4	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>246.82	>246.82	>246.82	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	246.82

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96114 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	95.60	93.99	102.41	100.83	98.19
50.00	950.50	90.04	94.66	92.41	102.05
100.00	100.97	89.55	91.81	93.82	88.40
200.00	90.51	86.01	75.51	81.46	77.46

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>114	>114	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	114

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300	>300	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96115 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	106.06	86.25	77.92	87.58	92.73
50.00	97.38	72.79	28.78	62.81	69.47
100.00	65.72	26.79	-63.87	31.27	10.82
200.00	28.33	-37.01	-74.73	-66.82	-98.80

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>15.2	>15.2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	15.2

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>296.1	>296.1	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	296.1

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96116 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	92.26	70.10	30.30	70.99	70.09
50.00	73.37	34.71	-67.05	36.22	-67.78
100.00	39.19	-44.76	-68.91	-35.29	-99.20
200.00	-65.16	-97.96	-85.38	-97.26	-99.40

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>6.15	>6.15	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	6.15

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>152.3	>152.3	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	152.3

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96117 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	98.83	89.64	91.59	97.66	96.41
50.00	97.78	85.64	79.70	86.79	91.51
100.00	91.50	69.85	38.25	62.06	70.99
200.00	53.43	26.99	-66.71	27.73	-26.86

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>33.4	>33.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	33.4

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96118 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	10.25	90.79	91.59	97.05	91.75
50.00	86.30	85.16	82.02	88.00	71.44
100.00	62.60	56.97	65.93	63.87	49.96
200.00	25.27	10.97	12.74	14.02	12.83

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>88.8	>88.8	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	88.8

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96119 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	104.73	91.86	89.71	101.75	98.67
50.00	108.60	92.86	88.51	98.22	89.91
100.00	106.32	87.69	85.68	102.04	64.12
200.00	67.93	71.20	74.49	84.34	26.56

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>105.7	>105.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	105.7

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96120 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity		Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15	
25.00	93.39	86.63	86.53	89.79	95.84	
50.00	98.14	81.44	73.62	79.62	88.17	
100.00	91.11	62.26	17.16	57.24	53.93	
200.00	62.80	12.75	-78.70	18.61	-98.00	

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>22.9	>22.9	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	22.9	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>148.7	>148.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	148.7	

Antiviral activity					
Virus	Poilo-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96121 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity		Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15	
25.00	105.00	86.75	97.23	97.71	87.44	
50.00	85.00	79.00	76.05	90.58	54.51	
100.00	31.14	46.68	-5.94	58.58	17.73	
200.00	11.33	10.61	-47.11	18.79	-17.55	

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>89.9	>89.9	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	89.9	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS			
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	

Antiviral activity					
Virus	Poilo-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96122 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	73.20	58.69	99.34	90.76	77.48
50.00	24.64	34.01	46.06	34.46	39.78
100.00	5.14	8.93	-32.92	8.59	10.10
200.00	-44.03	-37.14	-45.62	-47.17	-56.48

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	7.73
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>7.73	>7.73		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	68.01
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>68.01	>68.01		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	210.33
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>210.33	>210.33	>210.33		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96123 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	28857.00	90.29	100.86	100.67	100.53
50.00	104.43	89.47	104.29	99.22	96.00
100.00	104.27	87.33	99.38	95.94	92.55
200.00	96.35	79.80	91.66	91.47	84.00

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	105.6
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>105.6	>105.6		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96124 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	94.10	97.45	79.85	97.71	87.53
50.00	89.39	89.04	53.01	94.98	82.07
100.00	55.88	90.82	6.96	80.94	46.37
200.00	22.32	45.04	-60.64	43.39	15.26

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>98.1	>98.1	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	98.1

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	213	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96125 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	105.93	84.23	99.20	102.86	100.98
50.00	101.19	81.38	87.06	100.08	96.41
100.00	102.47	75.56	27.43	93.50	95.20
200.00	98.13	68.04	-69.48	80.24	82.15

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>22.2	>22.2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	22.2

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96126 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	49.29	57.06	48.55	58.61	41.13
50.00	21.37	6.63	8.61	35.01	26.20
100.00	-6.67	-46.75	-15.27	17.31	6.24
200.00	-68.08	-76.67	-61.46	-20.59	-84.44

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>14.8	>14.8	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	14.8

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>43.83	>43.83	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	43.83

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>121.33	>121.33	>121.33	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	121.33

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96127 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	95.00	90.03	71.91	87.29	78.52
50.00	80.94	61.24	26.68	72.85	68.79
100.00	46.98	31.23	-3.48	46.83	33.03
200.00	14.70	0.63	-44.73	15.05	-25.66

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>27.2	>27.2	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	27.2

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96128 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	92.95	98.13	81.87	104.04	101.99
50.00	87.83	94.46	74.28	96.29	89.09
100.00	71.85	102.47	53.08	87.38	76.48
200.00	75.49	81.80	18.69	52.40	51.68

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	106.8
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>106.8	>106.8		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96129 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	97.95	103.40	88.60	105.67	94.19
50.00	90.60	100.37	75.29	97.89	91.06
100.00	98.02	102.34	51.48	92.62	90.02
200.00	96.61	102.23	4.95	48.32	39.11

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	116.6
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>116.6	>116.6		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	195.8
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>195.8	>195.8		

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00		

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96130 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	93.94	96.86	75.88	103.60	100.53
50.00	103.57	80.05	53.12	91.91	96.29
100.00	90.32	87.38	18.15	70.59	65.62
200.00	27.10	14.87	-5.52	24.58	4.21

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>97.6	43	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	97.6

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	269.6	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>222.29	>222.29	>222.29	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	222.29

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96131 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	94.04	59.80	-52.82	57.05	27.83
50.00	84.07	-58.96	-77.87	-52.84	-92.93
100.00	-73.23	-96.52	-73.71	-89.90	-97.81
200.00	-78.67	-97.10	-83.71	-97.74	-96.95

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>10.7	>10.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	10.7

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	21.89	22.54	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	59.52

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	252.16	71.552	104.55	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96132 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	97.50	92.83	83.31	82.09	87.96
50.00	100.23	95.95	75.87	80.62	80.15
100.00	95.20	102.49	57.06	63.07	62.36
200.00	89.46	83.68	28.75	41.12	49.92

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>92.4	>92.4	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	92.4

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96133 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	97.96	101.38	60.12	102.00	98.59
50.00	98.02	104.02	16.53	88.71	77.69
100.00	94.34	104.02	16.53	88.71	77.69
200.00	91.91	84.83	-35.18	55.14	41.98

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>95.6	>95.6	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	95.6

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96134 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	91.46	101.57	68.52	99.00	100.50
50.00	89.26	104.08	58.76	92.61	101.29
100.00	97.98	101.68	42.09	84.79	86.39
200.00	91.97	104.31	26.27	71.85	41.84

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>106.8	>106.8	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	106.8

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96135 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	47.32	94.06	72.78	2.90	68.81
50.00	9.50	45.22	22.23	-44.70	57.72
100.00	-36.69	6.25	4.03	-85.53	31.57
200.00	-74.66	-34.31	-20.57	-98.40	12.94

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>29.7	>29.7	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	29.7

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	indiana		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96136 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	99.07	92.57	-13.38	92.33	89.20
50.00	56.18	38.91	-87.87	34.07	0.33
100.00	-63.77	-31.12	-98.43	-42.59	-96.22
200.00	-52.58	-89.99	-86.63	-89.68	-97.07

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
	>27.5	>27.5		27.5	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
	>214.4	>214.4		214.4	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
	>300.00	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK96137 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)				
CONC. (ug/ml)	A549	SK-OV-3	SK-MEL-2	XF498	HCT15
25.00	98.09	94.85	86.27	93.13	74.25
50.00	93.26	104.88	34.71	76.77	-27.95
100.00	48.62	52.68	-30.69	26.69	-77.20
200.00	6.02	-29.23	-92.81	-25.71	-82.45

Antiviral Activity					
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity		
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
	>79.5	>79.5		79.5	

Antiviral Activity					
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity		
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
	>300.00	>300.00		>300.00	

Antiviral activity					
Virus	Polio-1	Cox-B3	VSV	Cytotoxicity	
Strain	BH	Nancy	Indiana	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
	>300.00	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor Inhibitory Activities	
IC50/TF unit (ug)	>100

YK97001 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	53.03	33.84	21.98	-95.77
100.00	8.65	-12.91	-68.54	-95.77

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>157.50	>157.50	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	157.5

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>213.53	>213.53	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	213.53

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'04"	2'12"	-

YK97002 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50	90.84	46.2	80.62	57.87
100.00	63.53	-59.54	24.82	25.13

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>220.51	>220.51	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	220.51

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>286.42	>286.42	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	286.42

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'11"	1'08"	-

YK97003 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	97.00	78.68	103.17	55.13
100.00	91.35	60.23	94.35	49.35

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	300

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	300

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'08"	1'16"	40.00

YK97004 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	56.33	21.34	49.42	41.52
50.00	-17.29	-93.67	-94.98	-49.83
100.00	-90.04	-94.75	-96.69	-93.96

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
	>58.43	>53.43		58.43

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
	>50.12	>50.12		50.12

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'20"	1'10"	2.50

YK97005 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	89.33	53.63	89.14	70.52
100.00	73.65	15.95	52.87	49.91

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
	>254.33	>254.33		254.33

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
	>175.40	>175.40		175.4

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'54"	1'20"	3.48

YK97006 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	89.63	48.41	86.92	50.60
100.00	52.52	-8.43	44.85	0.79

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
	>142.39	>142.39		142.39

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
	>223.78	>223.78		223.78

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'03"	53"	-

YK97007 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	97.51	75.29	96.52	72.21
100.00	75.41	38.28	36.71	43.27

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>207.28	>207.28	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	207.28

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>190.00	>190.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	190

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'00"	1'30"	4.00

YK97008 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	3.12	-38.39	1.03	9.33
100.00	-29.32	-81.31	-50.42	-83.07

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>52.70	>52.70	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	52.7

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>88.65	>88.65	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	88.65

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'15"	2'06"	5.43

YK97009 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	88.91	22.65	57.81	48.85
50.00	39.37	2.55	18.66	26.01
100.00	6.90	-40.24	5.81	6.25

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>46.13	>46.13	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	46.13

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	EC <sub>50</sub> (ug/ml)	CC <sub>50</sub> (ug/ml)
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>244.89	>244.89	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	244.89

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'57"	1'15"	30.00

YK97010 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	88.84	-11.82	31.17	52.35
100.00	44.81	-75.22	-4.88	15.40

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>206.31	>206.31		206.31

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	145.14	>145.14		145.14

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'32"	2'05"	1.39

YK97011 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	96.21	80.51	96.54	70.74
100.00	95.72	66.04	96.01	64.94

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		300

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		300

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'17"	55"	-

YK97012 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	96.84	67.05	93.99	75.19
100.00	92.00	28.06	87.41	69.41

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		300

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00		300

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'59"	1'02"	-

YK97013 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	72.56	48.46	58.40	57.95
100.00	36.56	26.84	36.54	46.01

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>233.40	>233.40	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	233.4

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	300

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'17"	51"	-

YK97014 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	88.75	-43.48	10.50	55.55
100.00	22.44	-79.77	-43.44	12.82

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	83.93	90.45	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	160.57

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub> (ug/ml)	>140.51	91.59	CC <sub>50</sub> (ug/ml)	140.51

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'23"	2'32"	0.30

YK97015 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	94.08	68.61	94.33	61.13
100.00	43.66	-40.70	12.87	14.49

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>42.13	>42.13	CC <sub>50</sub>	42.13

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>261.73	>261.73	CC <sub>50</sub>	261.73

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'13"	48"	-

YK97016 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	76.30	47.61	93.22	55.57
100.00	62.19	21.87	75.10	45.40

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>300.00	69.84	CC <sub>50</sub>	>300.00

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF X	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'46"	1'01"	-

YK97017 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
12.50	18.71	40.26	75.94	25.02
25.00	6.28	14.32	31.29	5.12
50.00	-7.19	-32.21	2.63	-14.16
100.00	-74.41	-87.95	-52.99	-50.43

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>1.76	>1.76	CC <sub>50</sub>	1.76

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>27.22	>27.22	CC <sub>50</sub>	27.22

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF X	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'45"	55"	-

YK97018 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	87.53	-51.51	17.56	50.04
100.00	54.59	-78.38	-24.59	7.21

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>192.88	>192.88	CC <sub>50</sub>	192.88

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF X	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'58"	1'57"	4.72

## YK97019 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	48.74	35.90	35.88	40.20
50.00	-19.23	-61.70	11.17	1.59
100.00	-75.66	-83.94	-2.06	-84.89

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>52.59	>52.59		52.59

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>51.96	>51.96		51.96

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'15"	57"	-

## YK97020 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	100.63	59.61	96.09	66.99
100.00	97.91	15.64	69.18	-11.74

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>51.81	>51.81		51.81

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'52"	50"	-

## YK97021 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	102.23	72.74	36.50	82.26
100.00	24.17	20.21	0.72	64.41

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>46.56	>46.56		46.56

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>159.44	85.7		159.44

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'44"	2'55"	0.13

## YK97022 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	97.69	50.14	89.70	86.23
100.00	92.02	-8.22	56.26	57.08

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub>	111.81
EC <sub>50</sub>	>111.81	>111.81		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	300
EC <sub>50</sub>	>300.00	219.09		

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'34"	1'08"	-

## YK97023 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	102.69	38.33	73.53	89.38
50.00	99.85	-73.93	-82.22	64.19
100.00	86.66	-59.93	-88.35	17.12

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub>	41.57
EC <sub>50</sub>	>41.57	>41.57		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	300
EC <sub>50</sub>	>300.00	>296.92		

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'40"	1'35"	2.07

## YK97025 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	0.00	0.00	0.00	0.00
100.00	0.00	0.00	0.00	0.00

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub>	8.53
EC <sub>50</sub>	>8.53	>8.53		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	44.19
EC <sub>50</sub>	>44.19	>44.19		

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
-	-	-

YK97026 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	19.28	-73.13	2.86	10.98
50.00	5.05	-87.72	3.09	5.62
100.00	-17.57	-90.74	-98.77	-97.74

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'30"	2'12"	1.61

YK97027 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	97.03	87.84	105.67	94.90
100.00	88.65	68.63	90.60	75.26

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>199.63	>199.63	CC <sub>50</sub>	199.63

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'30"	1'20"	-

YK97028 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	100.72	77.50	94.78	85.40
100.00	96.86	16.50	71.42	69.70

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>199.63	>199.63	CC <sub>50</sub>	199.63

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	299.38	CC <sub>50</sub>	300

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'31"	1'15"	-

YK97029 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	100.31	77.39	100.03	86.37
100.00	99.76	37.85	71.04	78.32

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>251.75	>251.75	CC <sub>50</sub>	251.75

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>299.38	CC <sub>50</sub>	127.4

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'37"	1'16"	-

YK97030 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	48.25	15.08	29.15	39.56
100.00	0.44	-94.61	-37.27	-50.91

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>53.36	>53.36	CC <sub>50</sub>	53.36

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>127.40	>127.40	CC <sub>50</sub>	127.4

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'32"	1'10"	-

YK97031 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	101.99	90.40	102.63	83.97
100.00	97.00	79.33	103.16	72.21

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'30"	1'03"	-

YK97032 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	99.56	-22.22	78.81	55.21
100.00	84.31	-94.61	-39.73	2.19

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>58.35	>58.35	CC <sub>50</sub>	58.35

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'25"	1'09"	-

YK97033 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	91.95	93.66	106.77	82.18
100.00	77.00	81.25	101.72	64.29

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'26"	1'05"	-

YK97035 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	36.63	47.25	45.42	68.84
100.00	5.98	-57.34	6.33	12.62

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>117.42	13.375	CC <sub>50</sub>	117.42

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>146.26	>146.26	CC <sub>50</sub>	146.26

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'55"	1'30"	45.00

YK97036 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	93.41	51.82	85.82	81.21
100.00	74.18	-25.51	37.13	57.09

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>58.35	>58.35	CC <sub>50</sub>	58.353

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'40"	1'04"	-

YK97037 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	92.49	1.15	15.16	78.42
50.00	71.22	-80.19	-74.05	63.22
100.00	8.62	-67.68	-94.28	0.07

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>48.49	>48.49	CC <sub>50</sub>	48.494

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>184.37	>184.37	CC <sub>50</sub>	184.37

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'54"	1'20"	-

YK97038 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	83.73	37.17	54.25	82.40
50.00	51.66	-29.98	15.62	66.81
100.00	19.70	-70.27	-45.04	33.66

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>53.31	>53.31	CC <sub>50</sub>	53.308

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>158.36	>158.36	CC <sub>50</sub>	158.36

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'35"	2'55"	0.29

## YK97039 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	101.45	29.49	85.87	97.62
100.00	95.59	-48.08	29.47	82.85

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>214.15	83.332	CC <sub>50</sub>	214.15

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	183.99	192.92	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'31"	1'35"	-

## YK97040 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
6.25	101.90	39.48	68.82	105.12
12.50	103.07	17.36	40.54	95.83
25.00	102.63	-79.70	-24.40	83.49
50.00	100.77	-77.16	-89.99	43.34
100.00	-34.73	-67.90	-83.45	2.84

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>48.49	>48.49	CC <sub>50</sub>	46.908

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	286.65	262.1	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'40"	2'00"	0.67

## YK97041 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	102.78	87.83	103.58	77.61
100.00	98.59	46.30	85.94	62.34

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>201.10	>201.10	CC <sub>50</sub>	201.1

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
1'58"	1'02"	-

YK97042 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	76.34	44.49	64.59	84.77
100.00	50.61	-85.78	20.21	50.46

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>75.08	>75.08		75.083

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'31"	1'04"	-

YK97043 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	81.23	76.21	101.65	83.40
100.00	52.82	27.08	91.83	48.22

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>242.44	>242.44		242.44

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'20"	1'08"	-

YK97045 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	91.74	95.39	106.66	93.71
100.00	71.92	68.13	95.26	76.03

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>180.56	>180.56		180.56

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'19"	58"	-

YK97046 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	96.39	-11.66	70.72	44.45
50.00	83.19	-75.06	-61.70	-67.56
100.00	37.87	-69.23	-91.07	-89.19

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>45.86	>45.86	CC <sub>50</sub>	45.86

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>239.03	>239.03	CC <sub>50</sub>	239.03

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'13"	1'40"	11.33

YK97047 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	91.94	85.02	103.69	101.50
100.00	68.53	52.48	41.64	81.48

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>209.47	>209.47	CC <sub>50</sub>	209.47

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	263.51	259.54	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'04"	1'53"	5.20

YK97048 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	13.15	-93.24	1.16	28.92
100.00	-74.49	-83.68	-99.46	-97.92

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>57.59	>57.59	CC <sub>50</sub>	57.594

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>58.98	>58.98	CC <sub>50</sub>	58.98

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'10"	2'35"	3.89

YK97049 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	81.62	58.31	84.54	63.31
100.00	40.05	1.17	50.30	3.66

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>53.89	>53.89	CC <sub>50</sub>	53.892

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>231.74	>231.74	CC <sub>50</sub>	231.74

Tissue Factor inhibitory activities			
Clotting Time			
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>	
2'32"	1'12"	-	

YK97050 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	99.64	22.93	80.90	79.46
100.00	95.96	-83.45	28.80	5.80

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>202.15	>202.15	CC <sub>50</sub>	202.15

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities			
Clotting Time			
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>	
2'44"	1'29"	3.14	

YK97051 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	37.29	-61.54	31.98	25.45
100.00	10.47	-72.73	3.70	-90.02

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>52.78	>52.78	CC <sub>50</sub>	52.778

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>142.27	>142.27	CC <sub>50</sub>	142.27

Tissue Factor inhibitory activities			
Clotting Time			
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>	
3'04"	3'14"	1.19	

YK97052 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth,%)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	48.08	22.97	68.71	33.88
100.00	1.21	-95.10	-75.64	-26.80

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>55.24	>55.24		55.241

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>81.26	>81.26		81.26

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'39"	1'04"	-

YK97053 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth,%)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	69.31	51.55	95.62	88.20
100.00	15.94	12.51	32.32	24.42

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	CC <sub>50</sub>	Cytotoxicity
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>69.17	>69.17		69.17

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	CC <sub>50</sub>	Cytotoxicity
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>211.70	>211.70		211.7

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'02"	1'55"	1.49

YK97054 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (um/ml)	Cells (Net Growth,%)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	84.20	32.52	101.23	100.00
100.00	47.48	3.93	67.58	71.28

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>155.69	>155.69		155.69

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>298.78	>298.78		298.78

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'29"	1'03"	-

## YK97055 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	86.88	9.42	92.24	91.85
100.00	66.16	-90.68	71.75	56.56

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1		HIV-2	
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>163.20	>163.20	CC <sub>50</sub>	163.2

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1		HSV-2	
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>238.51	>238.51	CC <sub>50</sub>	238.51

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'23"	1'10"	-

## YK97056 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	90.97	32.89	83.81	97.02
100.00	57.97	-85.55	35.10	31.07

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1		HIV-2	
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>56.71	>56.71	CC <sub>50</sub>	56.713

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1		HSV-2	
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>176.10	>176.10	CC <sub>50</sub>	176.1

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'24"	1'10"	-

## YK97057 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	98.27	40.58	94.76	44.12
100.00	64.08	6.06	66.46	13.55

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1		HIV-2	
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>198.13	89.826	CC <sub>50</sub>	198.13

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1		HSV-2	
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>234.03	>234.03	CC <sub>50</sub>	234.03

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'42"	1'08"	-

## YK97058 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	94.22	61.04	100.12	98.44
100.00	72.22	10.44	63.87	71.72

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	215.17
EC <sub>50</sub>	>215.17	>215.17		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	>300.00
EC <sub>50</sub>	240.06	>225.50		

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF X	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'49"	2'32"	2.43

## YK97059 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	63.04	60.98	36.36	81.21
50.00	8.92	-65.27	10.72	1.70
100.00	-65.11	-92.07	-18.66	-93.35

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	51.287
EC <sub>50</sub>	>51.29	>51.29		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	48.25
EC <sub>50</sub>	>48.25	>48.25		

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF X	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'09"	1'30"	2.31

## YK97060 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	88.69	2.37	56.22	40.73
100.00	32.69	-79.02	7.14	5.38

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	59.786
EC <sub>50</sub>	>59.79	>59.79		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	178.47
EC <sub>50</sub>	>178.47	87.58		

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF X	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'55"	2'59"	0.11

YK97061 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth,%)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	74.40	14.83	87.63	75.83
100.00	46.05	-95.57	34.41	30.08

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>163.10	>163.10	CC <sub>50</sub>	163.1

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>250.31	>250.31	CC <sub>50</sub>	250.31

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'39"	1'55"	-

YK97062 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth,%)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
3.13	98.61	55.08	89.50	70.74
6.25	81.34	1.14	85.78	22.72
12.50	46.44	-72.49	52.63	1.74
25.00	36.24	-86.95	28.18	6.25
50.00	2.88	-93.47	-28.94	-14.32
100.00	-95.69	-94.64	-97.43	-97.50

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>7.16	>7.16	CC <sub>50</sub>	7.1644

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>26.90	>26.90	CC <sub>50</sub>	28.9

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'12"	1'44"	2.78

YK97063 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth,%)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	76.29	-26.11	68.24	34.61
100.00	33.24	-72.31	6.65	-55.50

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>54.39	>54.39	CC <sub>50</sub>	54.386

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>141.87	>141.87	CC <sub>50</sub>	141.87

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'22"	2'48"	-

YK97064 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	86.37	78.15	92.61	82.03
100.00	62.33	51.78	76.14	67.77

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>54.82	>54.82	CC <sub>50</sub>	54.822

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>192.51	>192.51	CC <sub>50</sub>	192.51

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'41"	1'00"	-

YK97065 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	87.01	79.75	98.29	78.83
100.00	74.56	57.67	81.36	60.89

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'08"	1'05"	1.49

YK97066 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
12.50	86.99	26.32	90.89	45.43
25.00	85.63	15.50	80.37	3.68
50.00	57.38	-54.37	28.63	-27.66
100.00	14.67	-70.14	-21.76	-74.45

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>58.35	>58.35	CC <sub>50</sub>	58.347

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>77.88	>77.88	CC <sub>50</sub>	77.88

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'04"	2'55"	0.04

YK97067 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	91.77	65.06	94.03	77.09
100.00	83.90	26.10	81.42	51.53

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>292.10	>292.10	CC <sub>50</sub>	292.1

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'10"	1'05"	-

YK97068 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	67.55	3.40	72.22	42.49
50.00	37.06	-42.97	23.15	-25.20
100.00	9.02	-80.88	-12.51	-58.14

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>54.48	>54.48	CC <sub>50</sub>	54.481

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>166.80	>166.80	CC <sub>50</sub>	166.8

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'21"	2'20"	-

YK97069 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	63.65	33.63	83.41	81.78
100.00	48.56	1.75	52.31	44.35

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>56.02	>56.02	CC <sub>50</sub>	56.017

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'14"	1'40"	1.88

YK97070 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	84.58	49.57	91.12	58.76
100.00	76.85	9.83	72.94	8.61

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>53.85	>53.85		53.851

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'10"	1'00"	-

YK97071 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	54.43	61.85	56.64	101.44
100.00	28.09	16.25	24.20	54.66

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>204.11	>204.11		204.11

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>284.31	>284.31		284.31

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'58"	1'37"	10.68

YK97072 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	84.73	39.24	82.85	98.24
50.00	76.11	-17.80	54.55	30.78
100.00	34.59	-61.08	19.71	13.59

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>206.39	>206.39		206.39

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>176.48	>176.48		176.48

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF X	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'31"	1'40"	0.74

## YK97073 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	93.98	36.69	88.02	58.92
50.00	90.54	-37.77	59.69	24.94
100.00	57.42	-69.97	9.28	-45.51

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>70.98	>70.98	CC <sub>50</sub>	70.982

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>210.73	>210.73	CC <sub>50</sub>	210.73

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'04"	3'24"	5.05

## YK97074 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	40.95	51.86	41.68	21.84
100.00	18.49	7.06	9.63	3.26

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>56.40	>56.40	CC <sub>50</sub>	56.399

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>130.48	>130.48	CC <sub>50</sub>	130.48

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'10"	1'05"	-

## YK97075 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth, %)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	73.52	21.75	85.21	63.13
100.00	44.24	-36.42	49.04	29.60

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>229.58	>229.58	CC <sub>50</sub>	229.58

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'00"	2'30"	10.90

YK97076 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	79.07	35.23	92.79	84.84
100.00	66.08	6.27	73.53	82.09

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>63.32	>63.32	CC <sub>50</sub>	63.317

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	220.23	130.89	CC <sub>50</sub>	>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'12"	2'09"	5.26

YK97077 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	32.08	15.10	51.81	13.22
100.00	11.48	-20.49	24.91	-1.50

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>185.42	>185.42	CC <sub>50</sub>	185.42

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>72.11	>72.11	CC <sub>50</sub>	72.11

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'29"	1'44"	13.16

YK97078 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
12.50	90.32	49.79	91.66	65.97
25.00	82.75	-2.88	68.74	40.40
50.00	61.06	-63.28	26.21	6.62
100.00	19.33	-74.67	4.45	-78.14

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	III B	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>169.49	>169.49	CC <sub>50</sub>	169.49

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>97.11	>97.11	CC <sub>50</sub>	97.11

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'05"	3'10"	1.00

YK97079 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	82.75	48.84	101.62	86.48
100.00	62.18	33.89	92.07	74.10

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	156.96
EC <sub>50</sub>	>156.96	>156.96		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	>300.00
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'40"	1'10"	-

YK97080 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
3.13	104.14	32.86	88.27	23.22
6.25	98.45	21.09	87.93	15.32
12.50	98.60	-1.70	79.82	13.13
25.00	97.53	-42.46	61.79	-10.11
50.00	90.28	-77.86	34.03	-53.52
100.00	28.25	-77.35	0.94	-70.76

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	198.27
EC <sub>50</sub>	>198.27	>198.27		

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	228.98
EC <sub>50</sub>	>228.98	>228.98		

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'10"	3'30"	0.687

YK97081 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth,%)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
3.13	97.42	46.90	95.68	52.03
6.25	94.93	68.06	98.88	49.47
12.50	84.99	41.83	100.06	39.00
25.00	70.90	20.27	81.00	31.17
50.00	48.06	12.02	49.68	29.11
100.00	20.58	-40.45	27.32	-11.96

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>117.47	>117.47	CC <sub>50</sub>	117.47

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>76.30	>76.30	CC <sub>50</sub>	76.3

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'02"	1'04"	-

YK97082 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity CONC. (ug/ml)	Cells (Net Growth,%)			
	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
3.13	100.51	79.46	97.86	78.94
6.35	101.38	79.83	103.04	51.31
12.50	95.40	68.19	104.45	54.73
25.00	84.27	35.24	100.74	53.83
50.00	63.94	3.42	84.31	50.50
100.00	23.68	-47.50	25.23	6.31

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>207.39	>207.39	CC <sub>50</sub>	207.39

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>234.61	>234.61	CC <sub>50</sub>	234.61

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'40"	1'12"	-

YK97083 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	51.81	47.39	51.91	85.14
100.00	26.37	11.52	30.35	53.51

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>166.52	>166.52	CC <sub>50</sub>	166.52

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>287.74	>287.74	CC <sub>50</sub>	287.74

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'40"	1'04"	-

YK97085 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	71.24	37.62	33.11	47.50
100.00	8.73	-51.85	4.20	3.50

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2		
Strain	IIIB	CBL20	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>58.11	>58.11	CC <sub>50</sub>	58.112

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2		
Strain	F	MS	Cytotoxicity	
EC <sub>50</sub>	>126.00	>126.00	CC <sub>50</sub>	126

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'24"	1'20"	52.78

YK97090 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	88.46	20.74	72.01	63.91
100.00	42.04	-73.33	3.47	-51.23

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>55.49	>55.49		55.486

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>181.67	>181.67		181.67

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'50"	2'15"	4.79

YK97091 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	54.52	51.80	51.53	68.08
100.00	5.65	-17.04	7.98	2.54

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>56.51	>56.51		56.509

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>134.54	>134.54		134.54

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'34"	2'40"	2.83

YK97092 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	83.91	54.53	73.36	77.41
100.00	54.42	-25.93	20.62	24.52

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>157.49	>157.49		157.49

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>291.29	>291.29		291.29

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'50"	2'20"	0.82

YK97093 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	75.65	34.10	50.24	78.28
100.00	39.88	-10.37	30.36	54.55

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>11.42	>11.42		11.419

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'20"	1'00"	-

YK97094 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	86.41	62.59	94.82	84.00
100.00	59.56	18.66	65.01	56.38

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>211.79	>211.79		211.79

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'43"	1'10"	-

YK97095 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth,%)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
25.00	78.01	12.98	60.51	58.25
50.00	58.75	-84.20	6.02	38.45
100.00	13.66	-85.43	-95.56	-13.90

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>51.62	>51.62		51.618

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'47"	1'52"	1.79

YK97096 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
3.13	97.96	72.81	91.89	58.26
6.25	97.77	57.20	86.94	42.26
12.50	96.23	24.47	70.05	21.62
25.00	95.80	-73.33	15.46	-40.97
50.00	62.19	-61.48	-83.92	-91.13
100.00	8.62	-55.11	-80.11	-94.17

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>52.76	>52.76	CC <sub>50</sub>	52.756

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>266.41	>266.41	CC <sub>50</sub>	266.41

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'40"	5'00"	0.10

YK97099 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
6.25	20.03	52.00	56.60	65.14
12.50	9.41	27.97	31.39	29.19
25.00	2.13	4.91	6.69	3.89
50.00	-25.63	-56.79	-40.98	-41.67
100.00	-56.66	-71.85	-82.86	-96.03

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	III B	CBL20		
EC <sub>50</sub>	>1.62	>1.62	CC <sub>50</sub>	1.6213

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS		
EC <sub>50</sub>	>26.37	>26.37	CC <sub>50</sub>	26.37

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'19"	1'26"	147.37

YK970100 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
CONC. (ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	86.41	-62.47	20.04	22.21
100.00	24.73	-72.35	-68.27	-53.57

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>98.95	>98.95		98.954

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>152.36	98.35		152.36

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
3'30"	3'45"	3.47

YK97101 (\*\*\*\*\*)

Cell cytotoxicity	Cells (Net Growth, %)			
(ug/ml)	A549	SK-MEL-2	SW620	UO-31
50.00	65.12	63.78	52.33	72.40
100.00	35.91	13.81	31.79	48.57

Antiviral Activity				
Virus	HIV-1	HIV-2	Cytotoxicity	
Strain	IIIB	CBL20	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>205.67	>205.67		205.67

Antiviral Activity				
Virus	HSV-1	HSV-2	Cytotoxicity	
Strain	F	MS	CC <sub>50</sub>	
EC <sub>50</sub>	>300.00	>300.00		>300.00

Tissue Factor inhibitory activities		
Clotting Time		
TF x	TF O	IC <sub>50</sub> /TF <sub>unit</sub>
2'38"	1'58"	-

TF test - Concentration of sample is 200 ug/tube.  
TF means Tissue Factor.