

癌の治療と予防効果を合せ持つトポイソメラーゼ阻害抗癌薬の開発

○ 鈴木啓太郎、高浪貢士

(熊本大学 大学院医学薬学研究部 薬学微生物学分野)

【目的】

トポイソメラーゼ (Topo) は、DNA の代謝をスムーズに進行させる生体に必須の酵素で、Topo をターゲットとした阻害物質が抗癌薬として臨床で使用されている。しかし、DNA 鎖を切断して阻害するため、DNA 鎖に傷害を与えない低毒性の Topo 阻害抗癌薬が望まれている。また、放射線や抗癌薬の繰り返し投与によって細胞が炎症し、活性酸素が発生する。この活性酸素は DNA 鎖を傷つけ、新たな癌細胞を作り出している。これまでに、抗酸化物質による発癌の予防効果は知られているが、その抗酸化作用は弱く、強い作用を示す低毒性の抗酸化物質が望まれている。そこで、微生物の培養液から見出した低毒性 Topo 阻害薬 (イソオーロスタチン) の化学構造を基に、抗酸化作用も示す化合物を合成し、癌の治療と予防効果を合せ持つ新たな Topo 阻害抗癌薬の開発をめざした。

【方法】 Topo I 及び Topo II の relaxation 活性は、基質 pBR322 を加え 37°C, 40 分間酵素反応した後、アガロース電気泳動を行い、未反応の pBR322 (supercoiled DNA) 量をデンストメーターで測定して求めた。Topo II の decatenation 活性は基質として kDNA を用い、酵素反応後の decatenated DNA 量を測定して求めた。癌細胞に対する増殖抑制効果は、24 時間培養した細胞に阻害薬を加え 48 時間作用させた後、rhodamine B 試薬を用いる HCC パネル法で測定した。抗酸化活性は diphenyl-picrylhydrazyl (DPPH) を用いたラジカル還元能で測定した。

【結果・考察】

Digalloylbenzeamide (DGBA) 誘導体

の合成： 3 種の DGBA 誘導体 (**1**, **2**, **3**) は、アミノ基がオルト位 (*o*-)、メタ位 (*m*-) またはパラ位 (*p*-) に付いた phenylenediamine と polyacetyloxybenzoyl chloride を反応させ、脱アセチル化した後、メタノール溶液から結晶化することで、約 60% の収率で得られた。

Trigalloylbenzeamide (TGBA) 誘導体

の合成： 3 種の TGBA-メチル誘導体 (**4**, **5**, **6**) は、アミノ基が 1, 2, 3-位、1, 2, 4-位または 1, 3, 5-位に付いた phenylenetriamine と polymethoxybenzoyl chloride を反応後、シリカゲルカラムを用いて単離することで、約 15% の収率で粉末を得た。また、3 種の TGBA 誘導体 (**7**, **8**, **9**) は、phenylenetriamine と polyacetyloxybenzoyl chloride を反応させ、脱アセチル化した後、シリカゲルクロマト、分配抽出、凍結乾燥の順で精製し、約 10% の収率で粉末を得た。

トポイソメラーゼに対する阻害効果： DGBA 誘導体 (**1**, **2**, **3**) の阻害活性は強く、galloyl 基の *o*、*m*、*p* 位による阻害活性の顕著な違いは見られなかった。最も活性の強い **1** の Topo I 及び II に対する阻害活性 (IC₅₀) は 0.9 μ M 及び 0.09 μ M で、代表的な Topo 阻害抗癌薬である Camptothecin や Etoposide よりも強く阻害し、DNA に傷害を与えることなく非拮抗的な阻害を示した。

TGBA-メチル誘導体 (**4**, **5**, **6**) は Topo I 及び II 阻害を示さなかった。Topo 阻害薬の構造に

関するこれまでの結果から、水酸基は阻害活性に重要であると考えられ、誘導体 **4**, **5**, **6** に阻害活性が見られないのは、全ての水酸基がメチル化されている為と考えられる。

TGBA 誘導体 (**7**, **8**, **9**) は Topo I を Camptothecin よりも強く阻害 ($IC_{50}=3.5 \mu M$) したが、DGBA 誘導体 (**1**, **2**, **3**) の半分ほどの阻害力であった。Topo II 阻害については検討中である。

抗酸化作用： 既存の Topo 阻害抗癌薬である Camptothecin や Etoposide に抗酸化作用は認められないが、DGBA 誘導体 (**1**, **2**, **3**) 及び TGBA 誘導体 (**7**, **8**, **9**) の抗酸化力は強く、ビタミン C, E, カテキンの 2～4 倍、脳代謝改善薬として使われている抗酸化薬エダラボンの 5 倍ほど強い抗酸化活性を示した。TGBA-メチル誘導体 (**4**～**6**) は抗酸化活性を全く示さず、

Topo 阻害活性と同様に水酸基がメチル化しているためと考えられる。

抗癌効果： Galloyl 基が隣接した誘導体 **1** (オルト位) と **4** (1,2,3 位) は、各種癌細胞の増殖を強く阻害した。誘導体 **1** は Topo 阻害活性が強く、抗癌パターンも従来の Topo 阻害薬と同じ抗癌機構と考えられたが、誘導体 **4** は Topo 阻害が弱く、しかも抗癌パターンが異なることから、Topo 阻害とは異なる機構で抗癌効果を示していると考えられた。誘導体 **7**, **8**, **9** については検討中である。

【問い合わせ先】

熊本大学薬学部 鈴木 啓太郎

TEL: 096-371-4327

E-mail: keitarou@gpo.kumamoto-u.ac.jp

