

核 酸 関 連 化 合 物 の 抗 腫 瘍 性 の 研 究 (V)

選択的に腫瘍核酸合成に阻止作用を有する核酸関連化合物の検索

豊 島 滋・戸根木尚子・永沼真理子・中村よし子

慶応義塾大学医学部薬化学研究所化学療法部門

(昭和46年8月17日受付)

前報¹⁾において我々は、数種の細胞系の DNA, RNA およびタンパク合成に及ぼす 6-Mercaptopurine(6-MP) および 6-Mercaptopurine ribonucleoside (6-MPR) を始めとする5種類のプリン誘導体と Mitomycin C, Iododeoxyuridine および Cycloheximide の阻止効果を調べた。

正常細胞であると腫瘍細胞であるとを問わず、なべて強く核酸合成を阻止するものと、相対的に腫瘍細胞の核酸合成系に阻止的に働くものに分けられることを見出した。臨床的に副作用の強いと言われる Mitomycin C などは前者に属し、副作用の頻度はかなり見出されるが、それでも重篤度の点でややこれより安定している 6-MP または 6-MPR などは後者に属していた。

すなわち、このことは腫瘍細胞核酸合成阻止がいつそう特異的であるような化合物を検索することにより悪性腫瘍に対する効果が強く、正常細胞への中毒学的影響の少ない抗腫瘍性薬剤を見出すことの出来る1つの方向であることを示している。そこで我々は、約100種類の核酸関連化合物、今回は特にプリン誘導体およびその近縁化合物について、Cover slip 法により Hep. No. 2 細胞と、Chick embryo fibroblast (CEF) の DNA および RNA 合成の阻止効果を調べ、腫瘍細胞に対する阻止効果の強いものを選択したので、その結果について報告する。

実験材料および方法

検討された核酸関連化合物：今回検討された核酸関連化合物はプリン誘導体、各種のプリンヌクレオシッド類およびその近縁化合物であつて、総て味の素株式会社中央研究所の協力をえて合成され提供されたものである。

使用細胞：実験に使用した細胞は人がん由来細胞として Hep. No. 2 細胞、正常細胞としては10日鶏胎仔から調整した fibroblast cells の初代培養（以下、CEF と略す）のものを使用した。

培地：増殖培地には10%牛血清加 YLA 培地を使用し、維持培地には EAGLE 培地を使用した。

Cover slip 法による核酸合成阻止の検討：これらの化合物の核酸合成阻止の検討のためには SCHAFFER の

Cover slip 法²⁾を我々が改良した方法を用いた。この方法の詳細は前報¹⁾に記述したとおりである。まず、被検化合物の溶液について Hep. No. 2 細胞および CEF に対する細胞毒性発現を調べて最大非毒性量を決定し、次いで10倍稀釈にて3段階稀釈、すなわち最大非毒性量、その1/10量、およびその1/100量について Hep. No. 2 細胞と CEF における DNA および RNA 合成を調べた。対照群として Saline を用い、この群の DNA および RNA 合成率と、薬物処理群のそれより、各々の被検薬物の各濃度における合成阻止率を計算した。

実験結果ならびに考察

(1) 核酸合成阻止様式の種類

核酸に DNA と RNA があり、使用細胞に悪性腫瘍と正常細胞があるわけであるから、その阻止様式を分類すると、下のようになる。

分類	要 項
I-a	腫瘍細胞の DNA と RNA の双方に作用し、正常細胞のそれらには作用の少ないもの
I-b	腫瘍細胞の RNA 合成にのみ作用するもの
II-a	腫瘍細胞と正常細胞の双方の DNA と RNA に作用するもの
II-b	腫瘍細胞の DNA と RNA および正常細胞のいずれかに作用する
II-c	正常細胞の DNA と RNA および腫瘍細胞のいずれかに作用するもの
II-d	腫瘍細胞と正常細胞の DNA と RNA の各々のいずれか1つに作用する

以上は今回検討した約100化合物について見出されたパターンであつて、これ以外の組み合わせの作用様式ももちろん存在しうるわけであるが、それらの型式は今回は見出せなかつた。

(2) 核酸関連化合物の種類

今回検索した核酸関連化合物を母核により分類し、その群の中での検索検体数と核酸合成阻止を示したものの数とこれらから算出した有効物質の検出率を表1に示した。

表1a および表1b に示すとおり、検索した核酸関連化合物は大別して16群に分けることが出来るもので、

表 1a 検索核酸関連化合物の構造と有効化合物検出効率

群別	基本構造	総検索数	有効物質	検出率 (%)	置換基
1		6	6	100	R ₁ ; NH ₂ , CH ₃ , H R ₂ ; CHO, H
2		4	0	0	R ₁ ; CH ₃ CO, H R ₂ ; CH ₃ CO, H R ₃ ; Br
3		1	0	0	
4		8	2	25	R ₁ O, H R ₂ ; O, H, SC ₂ H ₅ , SCH ₃ , Cl, NH ₂ R ₃ ; CH ₃ R ₄ ; (CH ₃) ₂ , CH ₃
5		17	1	5.9	R ₁ ; CH ₃ , C ₂ H ₅ , n-C ₃ H ₇ , CH ₃ OC(=O)CH ₂ S, KS, CH ₃ S CH ₃ >CHS, CH ₃ NH, CH ₃ >N, NH ₂ H, H ₄ NO ₃ S, Cl, COOH R ₂ H, CH ₃ CO, R ₃ ; H, CH ₃
6		3	2	66.7	R ₁ ; O, H R ₂ ; CH ₃ , H, C ₂ H ₅ R ₃ ; H, Cl R ₄ ; CH ₃ CO
7		11	0	0	R ₁ ; H, CH ₃ R ₂ ; H, CH ₃ CO, Ms, (MeO) ₂ CHCO, (Ts) ₂ R ₃ ; H, CH ₃ CO R ₄ ; Br
8		6	0	0	R ₁ ; Ts, Br-  , O ₂ N-  -SO ₂  -SO ₂ , Ms, H

表 1b

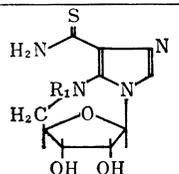
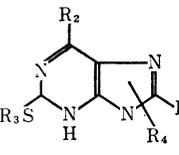
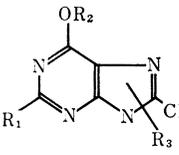
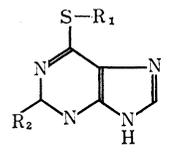
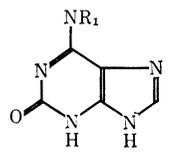
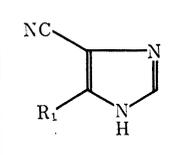
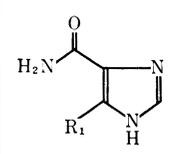
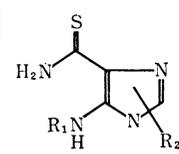
群別	基本構造	総検索数	有効物質	検出率 (%)	置換基
9		3	0	0	R ₁ ; Ts,  , H ₂
10		3	1	33.3	R ₁ ; CH ₃ R ₂ ; Cl R ₃ ; C ₂ H ₅ , CH ₃ R ₄ ; CH ₃ CO
11		8	1	12.5	R ₁ ; NH ₂ , H, SCH ₃ , SC ₂ H ₅ ,  Cl R ₂ ; C ₂ H ₅ R ₃ ; CH ₃ CO
12		3	2	66.7	R ₁ ; CH ₃ R ₂ ; H, O
13		3	0	0	R ₁ ; (CH ₃) ₂ , C ₂ H ₅ , CH ₃
14		7	3	42.9	R ₁ ; NHMe, NH, I, Br, HO-  -N=N- Me-  -N=N-, AcNH
15		4	0	0	R ₁ ; I, CH ₃ CONH, Cl, Br
16		4	0	0	R ₁ ; H, CH ₃ R ₂ ; CH ₃ CO

表 2a 選択された核糖関連化合物の核酸合成阻止効果

群別	構造式	使用濃度 (M)	阻			止			率	作分用型式類	群別	構造式	使用濃度 (M)	阻			止			率	作分用型式類			
			He La 細胞		RNA	He La 細胞		RNA						He La 細胞		RNA	He La 細胞		RNA			He La 細胞		RNA
			DNA	DNA		DNA	DNA							DNA	DNA		DNA	DNA						
	Mitomycin-C	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	95.2 79.6	— —	91.9 72.3	— —	— —	— —	— —	1		10 ⁻³ 10 ⁻⁴	76.9 62.3	62.7 0	0 —	0 0	0 0	0 0	I-a					
	IUDR	10 ⁻³ 10 ⁻⁴	— —	— 90.7	— —	— 82.4	— —	— —	— —	1		10 ⁻³ 10 ⁻⁴	77.6 0	88.3 88.6	81.1 56.0	74.3 51.3	— —	— —	— —	II-a				
1		10 ⁻³ 10 ⁻⁴	86.3 50.1	92.0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	0 0	4		10 ⁻³ 10 ⁻⁴	79.8 66.3	90.2 82.3	0 0	0 0	0 0	0 0	I-a					
1		10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	87.4 0 0	88.5 84.8 83.7	41.5 62.2 —	67.3 43.5 29.3	— — —	— — —	— — —	4		10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	85.2 66.1	57.5 0	56.5 —	0 0	0 0	0 0	II-b					
1		10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	85.8 77.8	97.2 95.3	52.4 42.7	31.9 31.7	— —	— —	— —	5		10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	58.7 66.1	0 0	32.7 32.4	0 0	0 0	0 0	I-b					
1		10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	90.7 85.8 82.2	82.6 72.9 67.2	80.1 — —	77.0 — —	— — —	— — —	— — —	6		10 ⁻³ 10 ⁻⁴ 10 ⁻⁵	84.9 0	83.3 52.0	70.4 39.2	0 0	0 0	0 0	II-b					

表 2b 選択された核酸関連化合物の核酸合成阻止効果

群別	構造式	使用濃度	阻			止			群別	構造式	使用濃度	阻			止			作用型式類
			HeLa細胞			C.E.F.細胞						HeLa細胞			C.E.F.細胞			
			RNA	DNA	DNA	RNA	DNA	DNA				RNA	DNA	DNA	RNA	DNA	DNA	
6 N-70		10 ⁻³	91.1	89.2	53.2	65.0	53.2	95.3	91.3	89.3	10 ⁻³	95.3	91.3	92.6	89.3	II-a		
		10 ⁻⁴	71.2	67.4	28.2	31.8	28.2	0	0	81.2	27.7	10 ⁻⁴	0	81.2	63.7		27.7	
10 N-48		10 ⁻⁴	66.4	0	0	0	0	73.2	0	0	10 ⁻³	73.2	0	64.3	0	II-d		
		10 ⁻⁵	54.6	0	0	—	0	0	91.1	0	0	10 ⁻⁴	91.1	0	40.5		0	
11 N-51		10 ⁻⁴	52.6	0	0	0	0	58.0	69.7	68.4	10 ⁻³	89.6	86.3	87.3	0	II-b		
		10 ⁻⁵	55.1	0	—	0	—	0	0	62.6	—	10 ⁻⁵	0	62.6	—		—	
12 N-43		10 ⁻³	83.7	90.8	47.4	51.9	47.4	93.1	94.5	40.5	10 ⁻³	93.1	94.5	80.8	40.5	II-b		
		10 ⁻⁴	86.1	80.7	—	0	—	50.5	73.7	21.0	10 ⁻⁴	50.5	73.7	44.7	21.0			
12 N-81		10 ⁻³	0	65.6	0	42.8	0	88.5	89.4	72.7	10 ⁻³	88.5	89.4	87.7	72.7	II-a		
		10 ⁻⁴	0	59.7	0	37.8	0	56.3	56.9	48.8	10 ⁻⁴	56.3	56.9	68.5	48.8			
14 N-88		10 ⁻³	93.3	92.7	88.3	93.4	88.3	84.5	0	87.1	10 ⁻³	84.5	0	89.2	87.1	II-C		
		10 ⁻⁴	93.3	92.7	88.3	93.4	88.3	58.0	0	88.3	10 ⁻⁴	58.0	0	88.3	86.2			

これらのうち有効化合物の検出効率の高いのは群別 1, 群別 6, 群別 12 および群別 14 であつた。群別 1 および群別 12 は共に SH 基を有するヌクレオシッドおよび free プリン体であるが, 群別 14 のように, プリン体を形成する前の前駆体の中に有効な核酸阻止物質が見出された。

選択された核酸誘導体の核酸阻止作用:

以上の 1 次スクリーニングにより見出された化合物について, その腫瘍および正常細胞の核酸合成の阻止効果について検討した。

実験の結果を表 2a および表 2b に示す。

検討は 22 の化合物について行なわれた。これらの化合物のうち, 腫瘍細胞の核酸合成に比較的特異的に作用するものは, N-35, N-54, N-34, N-53, N-48, N-51 の 6 化合物であつた。これらは化学構造的にヌクレオシッドに属する N-35, N-54 および N-34 と, アルキルチオプリン誘導体に属する N-48 と N-51 に分けることができる。

これらの化合物がなぜ腫瘍の核酸合成に特異的に作用するものであるかは現在のところ分らないが, 今後のこの点の解明は, 腫瘍細胞における核酸合成と正常細胞核酸合成の間に存在する質的な差を解明する 1 手段となるであろう。

それにもまして, これらの腫瘍核酸の特異的阻止物質が実験化学療法的にどのような効果を発現するかは期待のもたれるところである。

要 約

約 100 の核酸関連化合物について核酸合成の面で効果を検討し, 22 の化合物を選択した。

これら 22 の化合物の中から腫瘍細胞の核酸合成に特異的に阻止効果を示すもの 6 化合物を見出した。

文 献

- 1) 戸根木尚子, 永沼真理子, 豊島 滋: *Chemotherapy* 20(2): 291 (1972)
- 2) F. L. SCHAFFER: *J. Bact.* 91: 2309 (1966)

ANTITUMOR EFFECT OF NUCLEIC ACID ANALOGUES (V)

Studies on Nucleic Acid Analogues showing Specific Inhibition on Nucleic Acid Synthesis of Tumor Cells

SHIGESHI TOYOSHIMA, HISAKO TONEGI, MARIKO NAGANUMA
and YOSHIKO NAKAMURA

Division of Chemotherapy, Pharmaceutical Institute, School of Medicine, Keio University

One hundred nucleic acid analogues were screened as to their effect on the synthesis of DNA and RNA in either of tumor cells and non-tumor cells. Among 100 compounds, 6 analogues were found to be inhibitory selectively on the biosynthesis of nucleic acids of tumor cells.