

DISCOVERY OF NEW ANTITUMOR AGENTS FROM MEDICINAL PLANTS

Hideji Itokawa

Tokyo College of Pharmacy

Hachioji, Tokyo, Japan

抗腫瘍活性天然薬物研究の 展望

系川秀治

東京薬料大學

Many types of compounds have been isolated from higher plants till now, that is, alkaloids, terpenes, lignans, steroids and so on. One of them, named as RA series Cyclic hexapeptides isolated from *Rubia akane* and *R. cordifolia* also have strong antineoplastic activity against various types of tumors. Till now 10 kinds of RA series compounds were isolated and named as RA - I, II, III, IV, V, VI, VII, VIII, IX and X. Moreover, monoglucoside of RA - V newly isolated from same plant. Many kinds of derivatives including natural RA compounds were tested for QSAR, and one of them, RA - VII was screened up as a most suitable substance as an antitumor agent. RA - VII (=RA-700) has strong cytotoxic activity against KB cells, P388 lymphocytic leukemia and MM2 mammary carcinoma cells. RA - VII has been under investigation for Phase I clinical trials.

Key words : *Rubia akane*, *Rubia Cordifolia*, Antitumor agent, Cytotoxic activity.

A. はじめに

癌という疾病は、非常に範囲が広く一定の枠に収まりきれものではないといわれている。従って、単一の医薬品で全ての癌を治療し得ることは不可能といわれている。それだけに、現在まで種々の抗癌剤が出現しながらも、尚且つ新抗癌剤の開発が望まれているわけである。

今回本稿で扱う内容は天然物といっても、主に高等植物に限定して触れてみたい。いわゆる漢方薬も含めてそれ以外の高等植物起源の生薬なり、植物を対象に考えている。粗薬物としての天然物は一応「生薬」と定義されているが、現状ではそのままの形で癌に有効

とは、現代医学では認められていない。然し、伝承医学あるいは民間薬的な用法では、抗癌性ありと言われる生薬はかなり多く存在している。そのような生薬の中から有効成分として単離され、臨床に供されている化合物も幾つかは存在する。また、抗癌剤として開発の途上にある化合物もかなり多い。差当って、化学療法剤という分野は、大略次のように分類されている。1、アルキル化剤。2、代謝拮抗剤。3、抗生物質。4、ホルモン剤。5、酵素製剤。6、植物由来の物質。7、その他 となるが、この中で主に天然物由来と解されるのは、抗生物質、酵素製剤、植物由来の物質などである。従来、天然界より非常に有能な活性物質が得られ、それを規範として種々の化合物が合成されるのが普通であった。然し、最近では天然界からそのようなモデル化合物が得られ難くなり、勢い既成の化合物を元にしてのアナログ合成に走らざるを得ないのが現状である。それはともかくとして、合成であれ、天然界からの発見であれ、まだまだ開発の可能性が数多く秘められていると思われる。

天然界から活性物質を得るための薬効スクリーニングは、まだ完成の域には達しておらず、どの分野でも悩みの種となっている。抗癌剤のスクリーニングの場合も例外ではなく、より適切な方法を探して種々試行錯誤している状態である。

B. 抗癌活性物質のスクリーニング

現在の制癌剤開発の領域では、アメリカの癌センターの提案で、活性を示す用語に定義がなされている。すなわち、培養細胞に活性を示した場合は、細胞毒性cytotoxicityといい、動物腫瘍の実験で活性を示した時に抗腫瘍活性(antitumor, antineoplastic)という語を用い、臨床で人癌に活性を示して初めて、抗癌性ありという言葉を用いようということである。従来、このあたりの言葉の使い分けが曖昧であったため混乱を生じたことがあった。それにしても、スクリーニング法には、直接的な方法と間接的な方法の2種類がある。前者は直接攻撃するタイプで、癌細胞に対する毒性が活性を意味する。従って、切れ味がよいが副作用も強いということになる。いわゆる化学療法的抗癌剤であり、マイトマイシン、アドリアマイシン、ピンクリスチン、ブレオマイシン、ポドフィロトキシン等がこのタイプに属する。一方、後者は生体の癌に対する免疫性を補強させて癌細胞の増殖

を防ぐというタイプである。こちらの方は有効性が判然としないが、副作用の方も弱いという利点がある。免疫療法剂的抗癌剤がこれに属し、クレスチン、レンチナン、ピシバニール、丸山ワクチン等がこれに相当する。上、中、下薬の概念でゆけば、前者が下薬で後者が上薬に当てはまろうか。後者は日本人的発想であって、アメリカ人的発想は前者の直接毒性法である。アメリカ国立癌研究所(NCI)では、1953年以来広範囲に亘って検定を続けてきている。それに従って、スクリーニング法も時々改訂が加えられるが、これもよりよい方法を求めて試行錯誤を繰り返しているというのが現状であろう。

活性の検定に関してはすでに報告してあるので、詳細については省略させていただくことにする。

C. 天然物を起源とする抗腫瘍活性物質¹⁾

前述したように、自然界より得られる抗腫瘍物質も数多く、抗生物質をはじめ酵素製剤、植物多糖体のような一次代謝産物なども含まれる。自然界から抗腫瘍活性物質を見いだそうという努力は、世界各地で行なわれ、やはりアメリカのNCIが中心となっている。化合物的には、アルカロイド、テルペン、マクロライド、フェノール性化合物など種々雑多であり、基本的にどの骨格が有効という一定の型は存在しない。以下に植物由来の主な抗腫瘍活性物質について記載する。

C. 1. アルカロイド

a) ビンカアルカロイド

高等植物から得られて臨床的にも応用されている重要な化合物としてまず第一にあげられる。ニチニチソウ *Vinca rosea* (*Catharanthus roseus*) から得られるアルカロイドである。*Vinca*属植物は、民間療法で乳汁生成阻止剤、降圧剤、収斂剤および吐剤などに用いられている。ニチニチソウは、西インド諸島の原住民により、茶剤として血糖降下に用いてきた。抽出エキスは、白血球減少作用および細胞増殖抑制作用があり、その抗腫瘍活性作用機序として、紡錘形成前駆体との結合による可逆的な分裂阻止作用と、DNA依存性RNA polymerase系に作用してRNA合成を抑制する作用の2種類が考えられている。本植物から

は、これまで60種以上のアルカロイドが単離されている。抗腫瘍活性を有する代表的アルカロイドは、vinblastine(1)とvincristine(2)である。前者はホジキン病に、後者は白血病に有効とされている。その他、leurosine, lochnerine, vindoline, vindolinine等に血糖降下作用が認められている。

b) コルヒチン関連化合物

イヌサフラン*Colchicum autumnale*に含まれるアルカロイドである。Colchicineは、急性の痛風疾患に選択的に効果を示し、有糸分裂を阻害する。また、倍数体polyploidを作る重要な薬物として知られる。Colchicine(3)より誘導されるデメコルシンdesacetylmethylcolchicine(4)は、顆粒性白血球増血の際の細胞分裂を抑制し、慢性骨髄性白血病および悪性リンパ腫に有効な活性を示す。Colchicineamide(5)は、やはり誘導体の一種であるが、乳癌に対する治療比は高い。

c) セファロタキサスアルカロイド

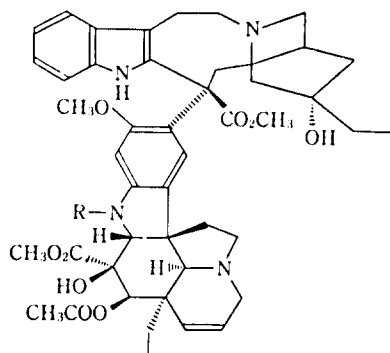
*Cephalotaxus harringtonia*より数種のエステルアルカロイドが単離され、実験的腫瘍に活性が認められた。Harringtonineは、cephalotaxine(6)に acid(7) の 2-enantiomer がエステル結合したものであり、homoharringtonine は、さらにアシル側鎖のメチル基が一個多くなっている。本2種のアルカロイドについては、中国において臨床的にテストが行なわれ、白血病性の患者に有効と報告されている。

d) カンプトテシン camptothecin²⁾

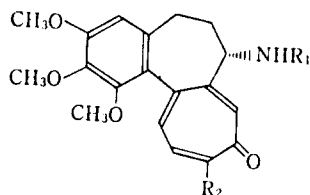
中国産の喜樹*Camptotheca acuminata* (Nyssaceae)から得られる抗腫瘍活性化合物である。臨床的に消化器系の癌にテストされたが、副作用が強いため、現在はその誘導体 (8) について臨床試験が進められ、認可されようとしている。

e) シノコクリン sinococuline (9)³⁾

アオツズラフジ *Cocculus trilobus* (Menispermaceae)から得られる抗腫瘍性アルカロイドであり、種々の実験動物腫瘍系により結果を得ている。

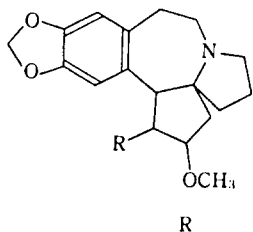


(1) vinblastine (R = CH₃)
 (2) vincristine (R = CHO)

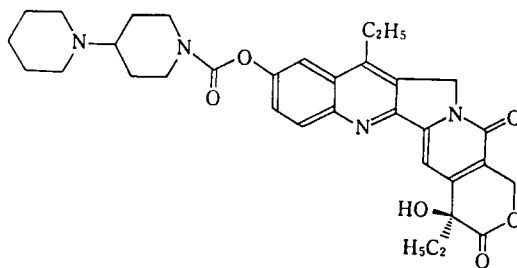


| | |
|-----------------------|------------------|
| R ₁ | R ₂ |
| (3) COCH ₃ | OCH ₃ |
| (4) CH ₃ | OCH ₃ |
| (5) COCH ₃ | NH ₂ |

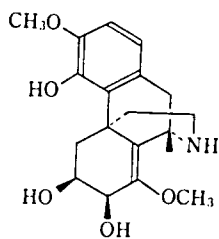
(3) colchicine (4) desacetylmethylcolchicine
 (5) colchicineamide



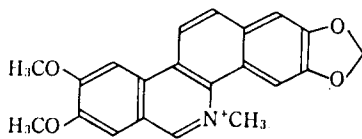
(6) -OH
 (7) $\text{CH}_3-\overset{\text{OH}}{\underset{\text{CH}_3}{\text{C}}}-(\text{CH}_2)_2-\overset{\text{OH}}{\underset{\text{COO}^-}{\text{C}}}-\text{CH}_2-\overset{\text{O}}{\parallel}{\text{C}}-\text{OCH}_3$
 (6) cephalotaxine
 (7) cephalotaxine acid



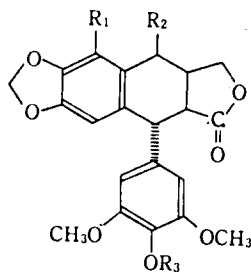
(8) カンプトテシン誘導体 (CPT-11)



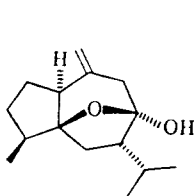
(9) sinococuline



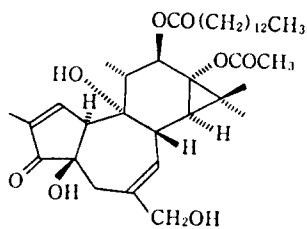
(10) nitidine chloride



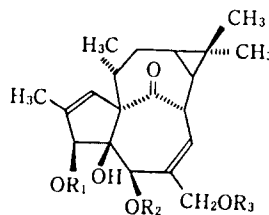
(11) podophyllotoxin
 (R₁ = H, R₂ = OH, R₃ = CH₃)



(12) curcuminol



(13) 12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate (TPA)



(14) ingenol-3-hexadecanoate
 (R₁ = CO(CH₂)₁₅CH₃, R₂ = R₃ = H)

f) その他のアルカロイド

ホンコン産の *Zanthoxylum nitidum* より、白血病性L1210およびP388マウスに対して有効性を示すnitidine chloride(10)が単離されており、また、*Acronycia baurei* より、アクリドン系アルカロイドの acronycine, *Ochrosia elliptica*より ellipticineが単離されている。EllipticineのL-アラビノシド誘導体Sun4599は、マウス同系腫瘍に対して優れた活性を示し、且つ安全域が比較的広いなどの点で日本で臨床試験が進められている。また、抗腫瘍性ビスベンジルイソキノリン類として、*Thalictrum dasycarpium* から thalictropine, *Stephania* spp. および *Menispermum* spp. より tetrandrine, *Cocculus* spp.より cocculusinineが得られている。

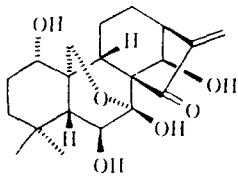
C. 2. リグナン

ポドフィルム *Podophyllum peltatum* の根茎は、アメリカ原住民により古くから駆虫薬や催吐薬として用いられた。そのアルコールエキスより得られる樹脂は、ポドフィリンと呼ばれる無晶形粉末で、細胞分裂阻止作用を有するため徹底的に研究された。樹脂中より、主活性物質の podophyllotoxin(11)が単離された。Podophyllotoxinは、colchicineよりも毒性が低く、正常細胞よりも変異細胞に対する作用が強いという選択毒性を有していたので、多くの誘導体を作成され、現在VP-16(etoposide)およびVM-26と呼ばれる誘導体が臨床的に用いられている。

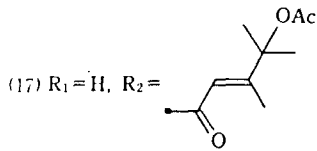
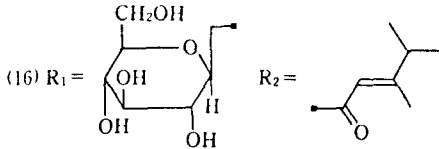
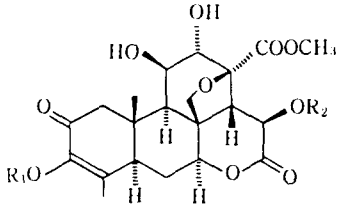
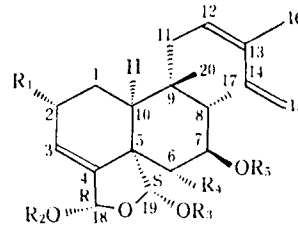
C. 3. テルペノイド

a) セスキテルペン

細胞毒性あるいは抗腫瘍性物質として、多くの化合物が得られており、構造的に分子内 α -methylene- γ -lactoneあるいは α , β -不飽和カルボニルなどのようなマイケル付加反応が起こり得るような部分構造を有する化合物が多く見られる。タンザニアの植物 *Acanthospermum glaberrimum* より eremantholide A, *Eupatorium hyssopifolium* より eupahysopin などが知られている。また、中国においては温我述 *Curcuma aromatica* より β -elemeneおよび curcumol(12) が活性物質として分離され、後者は臨床的に子宮頸癌に有効であることが確かめられている。

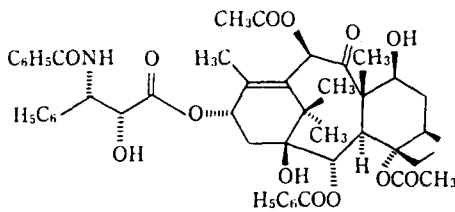


(15) oridonin

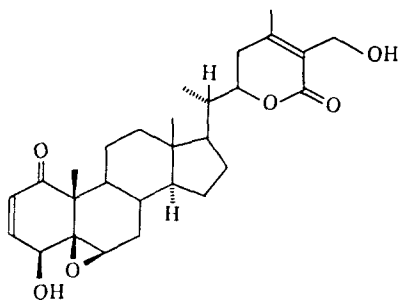


(16) bruceantinoside B

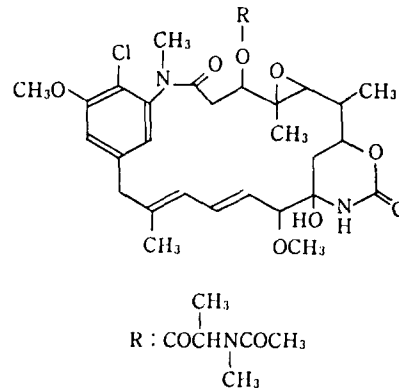
(17) bruceantinol



(19) taxol (NSC 125973)



(20) withaferin A



(21) maytansine

| casearins | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | R ₅ | IC ₅₀ (μmol/l)* |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------------------|
| A(1) | OMe | Ac | Ac | OH | Bu | 1.0 |
| B(2) | OMe | Ac | Ac | OAc | Bu | 8.5 |
| C(3) | OH | Ac | Ac | OAc | Dc | 0.77 |
| D(4) | OH | Bu | Ac | OH | Bu | 1.8 |
| E(5) | OH | Et | Ac | OH | Dc | 4.7 |
| F(6) | OH | Et | Ac | OH | Bu | 29.0 |
| G(7) | OMe | Ac | Ac | H | Bu | 0.17 |
| H(8) | OH | Ac | Ac | H | Bu | 0.37 |
| I(9) | OH | Ac | Bu | H | Bu | 0.51 |
| J(10) | OMe | Bu | Ac | OH | Bu | 1.1 |
| K(11) | OAc | Ac | Ac | OH | Bu | 0.52 |
| L(12) | OMe | Bu | Ac | OAc | H | 1.6 |
| M(13) | OH | Bu | Bu | OAc | H | 1.8 |
| N(14) | OMe | Ac | Bu | OAc | Bu | 5.9 |
| O(15) | OMe | Bu | Ac | OAc | Bu | 6.0 |
| P(16) | OMe | Ac | Ac | OAc | Ac | 7.8 |
| Q(17) | OH | Ac | Ac | OAc | Bu | 4.3 |
| R(18) | =O | Ac | Ac | OH | Bu | 5.4 |
| Aa(21) | OMe | Ac | Ac | =O | Bu | 0.55 |
| Ab(22) | OMe | Ac | Ac | OPr | Bu | 17.0 |
| Ac(23) | OMe | Ac | Ac | OBu | Bu | 38.0 |
| Da(24) | =O | Bu | Ac | =O | Bu | 19.0 |

* cytotoxic activities against V-79 cells

(18) ジテルペン系化合物

b) ジテルペン

イ) トウダイグサ科のジテルペン^{4, 5)}

トウダイグサ科 Euphorbiaceaeに属する植物からは、多種のジテルペンが分離され、特に Euphorbia属、Croton属およびJatropha属に関しては数多くの研究がある。この系統の化合物の中には、発癌のプロモーターとして有名なTPA(12-O-tetradecanoylphorbol-13-acetate)(13)がある。

また、すでに発癌因子として有名なingenol-3-hexadecanoate(14)がEuphorbia lathyrisより単離され、ある種の腫瘍系に強い活性を示した。

ロ) Casearia sylvestrisよりのジテルペン系化合物(A~R) (18)⁶⁻⁸⁾

本植物は、イイギリ科Flacourtiaceaeの植物で、ブラジル、パラグアイなど南米に広く分布している。パラグアイでは、Burro-Kaaと称して強壯、抗痙攣薬として用いられている。Sarcoma 180Aに有効な物質としてジテルペン系化合物が得られている。

ハ) Taxol(19)⁹⁾

北米産のイチイの一種Taxus brevifoliaの樹皮より得られるタキサン型のジテルペン系化合物である。現在最も注目されている抗癌剤であり、これからアメリカで卵巣癌の患者に対して臨床実験が行なわれる予定である。

ニ) その他のジテルペン

シソ科のRabdosia属植物からは、多種の抗腫瘍性ジテルペン類が単離されており、その中のoridonin(15)およびponicidinに関しては中国で臨床実験が行なわれた。また、エチオピアの原住民が癌治療の目的で用いているニガキ科植物Burucea spp.より抗腫瘍活性物質としてquassinoid類のbruceine C およびbruceantinoside A,B(16), bruceantanol(17)などが単離されている。このquassinoides系の化合物は、生合成的には本来トリテルペン系化合物に属する。

c) トリテルペン

ウリ科のCucurbita spp.よりCucurbitacin類、ナス科のWitheringia coccoloboidesより、physarin B およびその関連化合物、また、Salvia spp.よりビスノルトリテルペンの

cerasterolおよびpristimerin, さらにGanoderma lucidumよりポリオキシラノスタン型のganoderic acidが抗腫瘍活性物質として単離されている。

C. 4. ステロイド

ステロイド系の中でも、特に強心配糖体に属するbufadienolide, cardenolide, withanolide系統の化合物に活性を示すものが多い。Withaferin A(20)は、Withania somniferaより得られた活性物質である。

C. 5. マクロライド

Maytansine(21)は、Maytenus serrataより得られた抗腫瘍活性物質であり、KB細胞、L1210, P388, Sarcoma 180, Levis肺癌、Walker256などに有効性を示した。また、同じくニシキギ科の植物および微生物Nocardia spp.よりansamitocine系のMaytansinoid関連化合物が得られ、種々検討が試みられたが、毒性が強いため中断されるに至った。今後は誘導体作成による減毒が期待される。

C. 6. オリゴペプチド

a) ブバルジン bouvardin^{10, 11)}

アリゾナ大で最初に発見された化合物である。アカネ科のBouvardia ternifoliaから抗腫瘍活性成分として単離され、エーテル結合を有する環状のヘキサペプチドであることが確認された。

b) RA系化合物¹²⁻¹⁶⁾

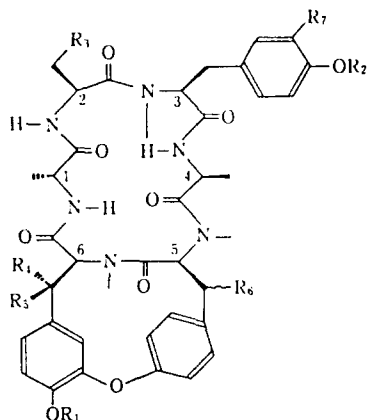
茜草根より得られるオリゴペプチドで基本骨格はbouvardinと同じく環状ヘキサペプチドである。

茜草根は古来、染料として用いられてきた植物であるが、Sarcoma 180Aに活性を示したことから成分検討を行い、抗腫瘍活性を示す10種類のオリゴペプチドを単離することができた。(表3) このオリゴペプチドは、日本産のアカネ Rubia akane および R. cordifoliaには含まれているが、セイヨウアカネR. tinctorumには含まれていない。

構造的には、図1に示すようなエーテル結合を有する2環状のヘキサペプチドであることが判明した。上記bouvardinと類似の化合物であり、RA-Vはdeoxybouvardinと一致す

表 RA 化合物の物理的性状

| 化合物 | 性状 | 化合物 | 性状 |
|--------|---|---------|---|
| RA-I | colorless powder, mp 284°C (dec., from MeOH) MS m/z : 772 [M] ⁺ (C ₄₀ H ₁₈ O ₁₀ N ₆) [α] _D ²⁰ -216° (CHCl ₃ -MeOH 9 : 1) | RA-VI | colorless needles, mp 219~220°C (from MeOH) MS m/z : 786 [M] ⁺ (C ₄₁ H ₂₀ O ₁₀ N ₆) [α] _D ²⁰ -118.6° (CHCl ₃) |
| RA-II | colorless needles, mp 261°C (dec., from MeOH) MS m/z : 756 [M] ⁺ (C ₄₁ H ₁₈ O ₉ N ₆) [α] _D ²⁰ -201° (CHCl ₃) | RA-VII | colorless needles, mp >300°C (from MeOH) MS m/z : 770 [M] ⁺ (C ₄₁ H ₁₈ O ₉ N ₆) [α] _D ²⁰ -229° (CHCl ₃) |
| RA-III | colorless needles, mp >300°C (from MeOH) MS m/z : 786 [M] ⁺ (C ₄₁ H ₂₀ O ₁₀ N ₆), 768 [M-H ₂ O] ⁺ [α] _D ²⁰ -199° (CHCl ₃) | RA-VIII | colorless needles, mp 267~269°C (from MeOH) MS m/z : 800 [M] ⁺ (C ₄₂ H ₂₂ O ₁₀ N ₆) [α] _D ²⁰ -159.5° (CHCl ₃) |
| RA-IV | colorless powder, mp 247~255°C (from MeOH) MS m/z : 786 [M] ⁺ (C ₄₁ H ₂₀ O ₁₀ N ₆), 768 [M-H ₂ O] ⁺ [α] _D ²⁰ -126° (CHCl ₃) | RA-IX | colorless needles, mp 242~243°C (from MeOH) MS m/z : 810 [M] ⁺ (C ₄₃ H ₂₀ O ₁₀ N ₆) [α] _D ²⁰ -158.1° (CHCl ₃) |
| RA-V | colorless powder, mp >300°C (from MeOH) MS m/z : 756 [M] ⁺ (C ₄₀ H ₁₈ O ₉ N ₆), 768 [M-H ₂ O] ⁺ [α] _D ²⁰ -225° (CHCl ₃) | RA-X | colorless needles, mp 255~256°C (from MeOH) MS m/z : 828 [M] ⁺ (C ₄₃ H ₂₂ O ₁₁ N ₆), 768 [M-H ₂ O] ⁺ [α] _D ²⁰ -205.4° (CHCl ₃ -MeOH 1 : 1) |

*Rubia cordifolia*

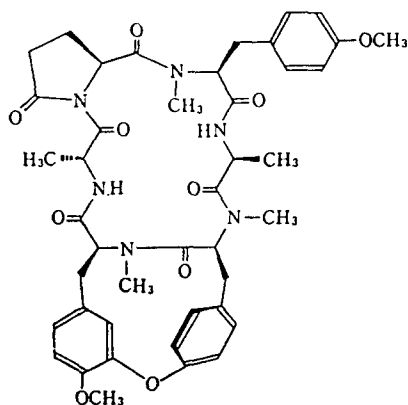
| | R ₁ | R ₂ | R ₃ | R ₄ | R ₅ | R ₆ | R ₇ |
|---------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| RA-I | H | Me | OH | H | H | H | H |
| RA-II | Me | H | H | H | H | H | H |
| RA-III | Me | Me | OH | H | H | H | H |
| RA-IV | Me | Me | H | OH | H | H | H |
| RA-V | H | Me | H | H | H | H | H |
| RA-VI | Me | Me | OH | H | H | H | H |
| RA-VII | Me | Me | H | H | H | H | H |
| RA-VIII | Me | Me | Me, OH | H | H | H | H |

Bouvardia ternifolia

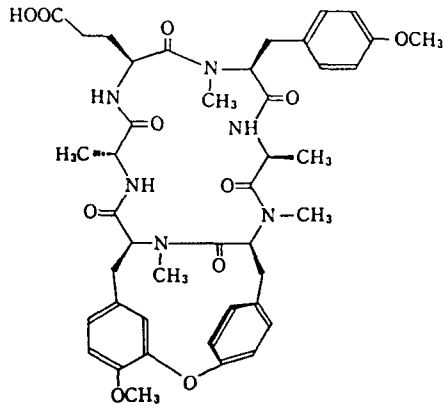
| | | | | | | | |
|-----------------------|---|----|---|---|---|------|---|
| bouvardin | H | Me | H | H | H | β-OH | H |
| deoxybouvardin (RA-V) | H | Me | H | H | H | H | H |

microbial transformation products

| | | | | | | | |
|-----------------------|---|---|---|---|---|------|----|
| O-desmethyl-bouvardin | H | H | H | H | H | β-OH | H |
| bouvardin-catechol | H | H | H | H | H | β-OH | OH |



RA-IX



RA-X

図1 プバルジン、RA系化合物

る。抗腫瘍活性が強く、前臨床を終え、臨床の第一層試験を受けているところである。

おわりに：

以上、すでに臨床的に用いられているものから、まだ単に抗腫瘍活性が認められたものまでを列挙してみたが、これら以外にも数多く報告が出されつつある。

然し、目下のところは、より適切なスクリーニング法の開発が望まれている。そうすればいずれ、さらに有用な新規化合物が開発されることであろう。

文献：

- 1, A Review: H.Itokawa; Yakugaku Zasshi, 108(9), 824-841(1988).
- 2, S.Sawada, R.Aiyama, et al.: Chem.Pharm.Bull., 39(6), 1466-1454(1991).
- 3, H.Itokawa, K.Takeya, et al.: Chem.Pharm.Bull., 35, 1660-1662(1987).
- 4, H.Itokawa, Y.Ichihara et al.: Planta Medica; 55, 271-272(1989).
- 5, H.Itokawa, K.Takeya, et al.: Phytochem., 29, 2025-2026(1990).
- 6, H.Itokawa, N.Totsuka, et al.: Chem. Pharm.Bull., 36, 1585-1588(1988).
- 7, H.Itokawa, K.Takeya, et al.: Chem.Pharm.Bull., 38, 3384-3388(1990).
- 8, H.Morita, H.Itokawa, et al.: Chem.Pharm.Bull., 39, 693-697(1991).
- 9, M.Grever, M.Suffness, et al.: the Annual Meeting of the Pharmaceutical Congress of Japan(Tokyo, 1991).
- 10, S.D.Jolad, J.R.Cole, et al.: J.Amer. Chem.Soc., 99(24), 8040-8044(1977).
- 11, R.B.Bates, J.Cole, et al.: J.Amer.Chem.Soc., 105(5), 1343-1347(1983).
- 12, H.Morita, H.Itokawa, et al.: Tetrahed., 47(16/17), 2757-2772(1991).
- 13, H.Itokawa, K.Saitou, et al.: Chem.Pharm.Bull., 39(8), 2161-2163(1991).
- 14, H.Itokawa, H.Morita, et al.: Tetrahed. 47(34), 7007-7020(1991).
- 15, H.Itokawa, H.Morita, K.Takeya, N.Tomioka, A.Itai: RA-III and VI, Conformati-

onal Isomers of Antitumor Cyclic Hexapeptides, RA-III and VI from *Rubia cordifolia*; Chem. Lett., 2217-2220, 1991.

- 16, H. Itokawa, T. Yamamiya, H. Morita, K. Takeya: New Antitumor Bicyclic Hexapeptides, RA-IX and -X from *Rubia cordifolia*; J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1992, 455-459.