

N-17

ラノスタン型トリテルペノイド *N*-配糖体の合成と腫瘍細胞傷害活性Synthesis of Lanostane Type Triterpenoid *N*-Glycosides and Their Cytotoxicities against Human Cancer Cell Lines○樋川舞子¹, 早川哲平², 岡崎航太², 仁科淳良³, 深津誠^{3,4}, 浮谷基彦³*Maiko Hikawa¹, Teppei Hayakawa², Kouta Okazaki², Atsuyoshi Nishina³, Makoto Fukatsu^{3,4}, Motohiko Ukiya³

Abstract : Glycosylation is a promising method for enhancing cancer-targeting effect of anticancer agent. Since the lanostane type triterpenoid had been reported as potential anticancer compounds, the lanostane type triterpenoid *N*-glycosides were synthesized in this study. D-Glucoside and D-fucoside showed no significant activity against all cancer cell lines used in this study. On the other hand, the D-galactoside showed high cytotoxicities against HL60 and MKN45.

1. 目的

現在, がん治療の化学療法に使用される抗がん剤は, がん細胞だけではなく正常細胞へも影響を及ぼすため, 副作用を示す問題がある。¹⁾

この問題を解決するため副作用を低減した抗がん剤分子の開発研究が行われているが, 近年, 配糖体化が一つの選択肢として注目されている。配糖体とは, 糖と非糖部(アグリコン)が結合している分子であるが, 一部の配糖体は特定の腫瘍細胞に対して選択的に傷害活性を示し, 動物実験も実施されていること^{2,3)}から, 配糖体は抗がん剤開発の観点から有望であると言える。一方, 近年, ラノスタン型トリテルペノイドである Ganoderic acid DM が細胞傷害活性を示す⁴⁾ことが報告された。

以上の背景から, 本研究ではラノスタン型トリテルペノイド *N*-配糖体の合成に着手した。ここではラノステロールを基質とした *N*-配糖体の合成および, その細胞傷害活性について報告する。

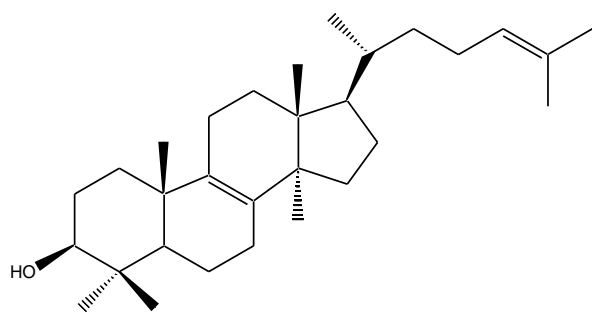


Figure 1 Lanosterol (1)

2. 方法⁵⁻⁷⁾

2.1 ラノステロール誘導体の合成

Lanosterol (1)を Pyridine に溶かし, Acetic anhydride を加えて一晩, 室温で攪拌することでアセチル化物 (2)を得た。化合物 2 を Chloroform に溶かし 3-Chloroperoxybenzoic acid,

Sodium hydrogen carbonate を加えて室温および 0°C で攪拌して粗生成物を得, シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製してエポキシド (3)を得た。化合物 3 を 1,2-Dimethoxyethane に溶かし, Perchloric acid を加えて室温で 24h 攪拌することでエポキシド開裂物 (4)を得た。化合物 4 を Tetrahydrofuran/水に溶かし Sodium periodate を加えて 50°C で 6h 攪拌することでアルデヒド (5)を得た。化合物 5 を Pyridine/Methanol に溶かし, Methoxyamine hydrochloride を加えて室温で 1h 攪拌することでオキシム (6)を得た。化合物 6 を 1,4-Dioxane/Ethanol に溶かし, Borane-*tert*-butylamine complex, 3M Hydrochloric acid を加えて 0°C で 2.5h 攪拌することでアグリコンであるアミン (7)を得た。

2.2 *N*-配糖体化反応

2.2.1 D-グルコース配糖体の合成

化合物 7 を *N,N*-Dimethylformamide/acetic acid に溶かし, D-グルコースを加えて 40°C で 28h 攪拌することで 24-Methoxyamino-25,26,27-trinorlanost-8-en-3 β -yl acetate 24-*N*-D-glucopyranoside (8) を得た。

2.2.2 2-デオキシ-D-グルコース配糖体の合成

2-デオキシ-D-グルコースを加えて 2.2.1 と同じく合成反応することで 24-Methoxyamino-25,26,27-trinorlanost-8-en-3 β -yl acetate 24-*N*-2-deoxy- β -D-glucopyranoside (9)を得た。

2.2.3 *N*-アセチル-D-グルコサミン配糖体の合成

N-アセチル-D-グルコサミンを加えて 2.2.1 と同じく合成反応することで, 24-Methoxyamino-25,26,27-trinorlanost-8-en-3 β -yl acetate 24-*N*-2-acetamido-2-deoxy- β -D-glucopyranoside (10)を得た。

2.2.4 D-ガラクトース配糖体の合成

D-ガラクトースを加えて 2.2.1 と同じく合成反応することで, 24-Methoxyamino-25,26,27-trinorlanost-8-en-3 β -yl acetate 24-*N*- β -D-galactopyranoside (11)を得た。

1: 日大理工・学部・応化 2: 日大理工・院(前)・応化 3: 日大理工・教員・応化 4: 日大短大・教員・化学

2.2.5 D-フコース配糖体の合成

D-フコースを加えて 2.2.1 と同じく合成反応することで、24-Methoxyamino-25,26,27-trinorlanost-8-en-3 β -yl acetate 24-N- β -D-fucopyranoside (**12**)を得た。

2.2.6 L-グルコース配糖体の合成

L-グルコースを加えて 2.2.1 と同じく合成反応することで、24-Methoxyamino-25,26,27-trinorlanost-8-en-3 β -yl acetate 24-N-L-glucopyranoside (**13**)を得た。

各化合物は各種クロマトグラフィーで精製し、構造の確認は NMR 法及び MS 法により行った。

2.3 細胞傷害活性試験

化合物 **1-12** を用いて腫瘍細胞モデルとして HL60(白血病細胞), A549(肺がん細胞), MNK45(胃がん細胞)の 3 種, また正常細胞モデルとして WI-38(肺正常細胞)に対して MTT 法により傷害活性を評価した。結果は 50%生存阻害濃度(IC₅₀)として算出した。

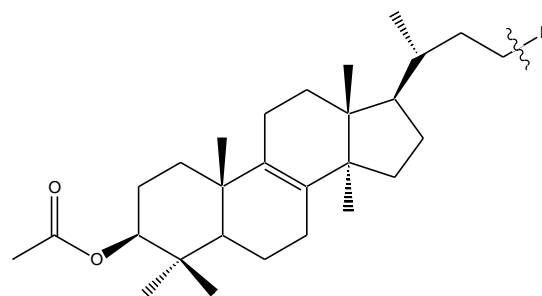
3. 結果・考察

Lanosterol (**1**)を基質として化合物 **2-13** を合成した。

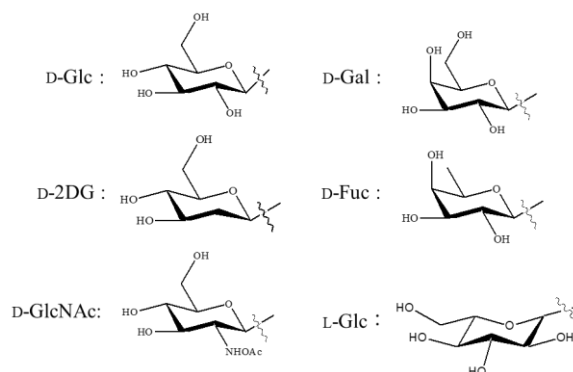
Table1 に示すように D-グルコース配糖体は実験した全ての腫瘍細胞に対して顕著な活性を示さなかったが、D-ガラクトース配糖体は HL60 と MKN45 に対して活性を示した。この 2 種類の N-配糖体の構造を比較すると糖部 4 位の水酸基の向きが異なる。よって糖部 4 位の水酸基の立体構造は HL60 と MKN45 に対する傷害活性と関係していると考えられる。また、D-フコース配糖体は実験した全ての腫瘍細胞に対して顕著な活性を示さなかった。D-ガラクトース配糖体と D-フコース配糖体の構造を比較すると前者は糖部 6 位に水酸基があるが、後者は水酸基がない。よって糖部 6 位の水酸基の有無は HL60 と MKN45 に対する傷害活性と関係していると考えられる。

4.参考文献

- 1) 薬物療法(抗がん剤治療)のことを知る『国立研究開発法人国立がん研究センター』
<http://ganjoho.jp/hikkei/chapter3-1/03-01-05.html>
- 2) A.Waheed, *et al.*, *Eur. J. Pharm. Sci.* **47**, 464-473 (2012).
- 3) N. Kim, *et al.*, *Sci. Rep.* **6**, 29721; DOI: 10.1038/srep29721 (2016).
- 4) J. Liu, *et al.*, *Sci. Rep.* **2**, 905; DOI: 10.1038/srep00905 (2012).
- 5) L. K. Kavtaradze, *et al.*, *Steroids* **69**, 227-233 (2004).
- 6) M. Della Greca, *et al.*, *Phytochemistry* **35**, 1017-1022 (1994).
- 7) 早川哲平, 日本大学大学院理工学部研究科修士論文 (2017).



	R		R
2		8	D-Glc
3		9	D-2DG
4		10	D-GlcNAc
5		11	D-Gal
6		12	D-Fuc
7		13	L-Glc

Figure 2 Chemical structures of compounds **2-13**Table 1 Cytotoxic activities of compounds **1-13**

Compounds	Cytotoxic activity IC ₅₀ (±S.D.) [※] (μM)			
	HL60	A549	MKN45	WI-38
1	100<	100<	100<	100<
2	100<	100<	100<	100<
3	100<	100<	100<	100<
4	30.8(±4.8)	100<	100<	100<
5	38.7(±6.9)	46.7(±4.4)	98.9(±1.8)	100<
6	-	-	-	-
7	-	-	-	-
8	100<	100<	100<	96.7(±1.1)
9	9.4(±0.2)	100<	100<	100<
10	2.8(±0.8)	0.67(±0.072)	0.0042(±0.005)	0.62(±0.036)
11	0.00021(±0.00044)	100<	4.0(±2.1)	100<
12	100<	100<	100<	100<
Reference compound				
Cisplatin	1.3 (± 0.1)	18.4 (± 1.9)	7.0 (± 0.1)	20.1 (± 2.4)

※ S.D. : standard deviation