

アンチモンやビスマスを中心とする有機-無機ハイブリッド分子の 抗腫瘍活性

研究代表者：安池 修之

研究分担者：小幡 徹、

松村 実生、

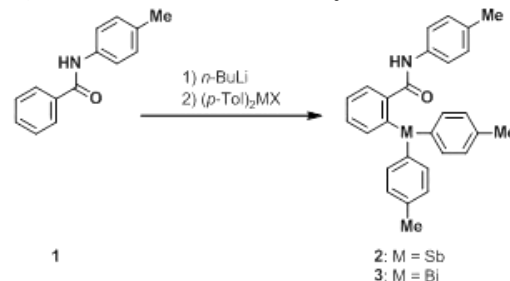
(鈴木 由香)

従来まで抗がん活性を示す物質は炭素・窒素・酸素を構成原子に持つ天然物資源や白金などの遷移金属を持つ錯体分子が中心となってきたが、患者数の増加や未だ難治性のがんがあるなど、新しく核となる骨格・元素の利用や提案はその領域で極めて重要な知見となる。最近我々はフッ素原子を持つ有機アンチモン (Sb) 化合物がメタロチオネイン転写遺伝子の誘導能を示すことや窒素官能基側鎖を持つ有機ビスマス (Bi) 化合物が急性白血球細胞に対して活性を示し、アポトーシスを選択的に誘導することを見出し、一部報告している。これらの知見は、Sb や Bi を構成原子に持つ化合物がこれまでにない新しいタイプ (有機-無機ハイブリッド分子) の抗がん活性化化合物となりうる可能性を示唆している。それらとの関連から研究期間 (27, 28 年度) には以下の2つのテーマに取り組んだ。

1) アミド結合を持つ新規超原子価有機 Sb・Bi 化合物の合成と抗腫瘍活性¹⁾

アミド結合と Sb・Bi 原子をハイブリッドさせた化合物 (**2**, **3**) を標的化合物にデザインし、その合成、立体構造の解明ならびに抗腫瘍活性について検討した。ベンズアミド誘導体 (**1**) に対して *n*-BuLi (3 eq) を作用させたのち、Sb や Bi を構成原子に含む親電子試薬との処理を行なったところ、目的とする **2** (M = Sb: 51%) と **3** (M = Bi: 29%) をそれぞれ得ることができた。**2**, **3** の良好な単結晶が得られたので X 線結晶解析を行なった。その結果、カルボニル基の酸素原子と Sb・Bi 原子の

空間的な距離は 2.921 Å (**2**: M = Sb), 2.973 Å (**3**: M = Bi) となり、それぞれの原子の van der Waals 半径の和 (O-Sb: 3.60 Å, O-Bi: 3.80 Å) よりも短く O-Sb、O-Bi の超原子価結合が存在することが示された。一方、アミド結合は窒素原子も持つが窒素原子と Sb・Bi 原子の空間的な距離は 4.61 Å (**2**: M = Sb), 4.69 Å (**3**: M = Bi) となり、それぞれの原子の van der Waals 半径の和 (N-Sb: 3.70 Å, N-Bi: 3.90 Å) よりも遠く離れていることが判明した。O-M-C3 の結合角は 157.40° (**2**: M = Sb), 153.13° (**3**: M = Bi) となり、中心原子は擬三方両錐構造を採ることが明らかになった。



Scheme 1. Synthesis of **2** (Sb) and **3** (Bi).

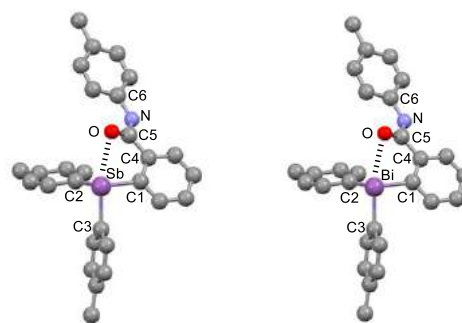


Fig. 1. Molecular structure of **2** (Sb) and **3** (Bi).

Table 1. IC₅₀ (μM) for compounds **1-3** in several tumor cell lines.

	IC ₅₀ (μM) ^a			
	1	2	3	CDDP
L1210	>200	4.6 ± 1.6	0.40 ± 0.24	2.3 ± 1.3
Mm1	>200	8.3 ± 2.2	0.74 ± 0.33	n.d. ^b
HL-60	>200	6.0 ± 5.5	0.40 ± 0.12	0.96 ± 0.11
RPMI 8226	>200	10.8 ± 5.6	1.3 ± 1.1	2.7 ± 0.88
HT-1080	>200	6.7 ± 3.6	0.23 ± 0.12	n.d. ^b
MKN-45	>200	6.5 ± 3.9	0.99 ± 0.23	3.1 ± 0.026
DLD-1	>200	4.8 ± 1.5	0.45 ± 0.45	5.1
MDA-MB-231	>200	5.4 ± 1.1	0.38 ± 0.28	6.2

^a IC₅₀ values were showed the mean ± SD. ^b not determined.

1-3 の ¹³C-NMR では、カルボニル炭素の化学シフトが 165.8 ppm (**1**), 167.3 ppm (**2**), 168.4 ppm (**3**) となり、無置換体(**1**)より Sb・Bi 誘導体(**2, 3**)で低磁場シフトが観測された。これは酸素—15 族原子間の超原子価結合を介して酸素から高周期元素への電子の流れ込みが示唆され、溶液状態でも超原子価結合が存在していると考察した。

これらの Sb や Bi を構成原子に持つ高周期典型元素化合物の生物学的可能性を 8 種の培養がん細胞を用いて *in vitro* の抗腫瘍活性を調べた。その結果、Sb を有する **2** (IC₅₀ = 4.6 – 10.8 μM) は既存金属含有抗がん剤 CDDP (IC₅₀ = 0.96 – 6.2 μM) と同程度の抗腫瘍活性を示し、Bi 含有の **3** は更に高い抗腫瘍活性を示した (IC₅₀ = 0.23 – 1.3 μM)。しかし、ベンズアミド側鎖部分のみの **1** では全く抗腫瘍活性を示さなかった (IC₅₀ > 200 μM)。また、ベンズアミド側鎖部分を持たないトリフェニル体もほとんど抗腫瘍活性を示さなかった。つまり、抗腫瘍活性にはアミド結合と Sb・Bi 元素が必要であり、これらのアミド結合を持つ有機 Sb・Bi 化合物は有望な抗がん剤候補化合物となる可能性があると考えられた。次にマウス腹腔内に移植した P388 白血病細胞に対して、高用量 (120 mg/kg) の **3** および *in vitro* で全く抗腫瘍効果を示さな

った **1** は強い毒性を示し、投与翌日に全例死亡した。一方、低用量 (12 mg/kg) の連投では **3** に延命効果 (122%) を認め、著しい体重減少や下痢などは観察されなかった。しかし、外的刺激などに過敏になっていたため、中枢神経系への何らかの影響が考えられた。

2) NOBF₄ を利用したトリアリールアンチモンジフルオリドの一般合成法の開発と抗腫瘍活性²⁾

5 価 Sb 化合物 (**5**) を標的化合物に選定し、NOBF₄ をフッ素化剤に用いて Ar₃SbF₂ の簡便な一般合成法の確立とその抗腫瘍活性能について検討した。空気雰囲気下、CH₂Cl₂ 溶液中で各種の Ar₃Sb (**4**) に対して 2 当量の NOBF₄ を作用させたところ対応する 9 種の Ar₃SbF₂ (**5**) を系統的に 45~85% の収率で得ることができた。**5a-j** の抗腫瘍活性を 5 種類の培養がん細胞株で検討した結果、中程度の活性 (IC₅₀ = 2.43 – 43.8 μM) を示し、細胞種による相違は認められなかった。Ar 基として Ph 基を導入した **5a** に比較し、*p*-Tol 基 (**5c**) は 2.4 – 3.7 倍も高い抗腫瘍活性を認めたが、位置異性体 (**5j**) ではその活性は減弱した。強力な電子求引性基を持った **5i** では、著しい活性の減弱が認められた。

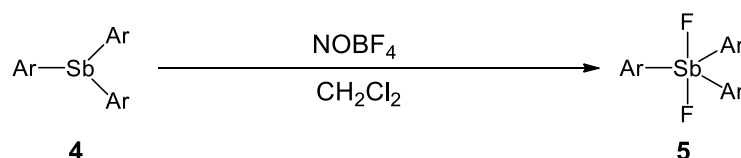
**Scheme 2.** Synthesis of Ar₃SbF₂ **5**.

Table 2. IC₅₀ for compounds **5a-j** in several tumor cell lines.

	Ar	B16-F10	HL-60	HT-1080	DLD-1	MCF-7
5a	-Ph	7.17 ± 4.02	8.20 ± 2.72	13.2 ± 6.7	8.09 ± 3.05	14.2 ± 7.2
5b	-C ₆ H ₄ OMe	5.60 ± 4.21	6.85 ± 1.01	9.77 ± 5.00	6.17 ± 1.26	10.2 ± 0.9
5c	- <i>p</i> -Tol	2.43 ± 1.23	3.63 ± 0.73	3.97 ± 1.84	3.26 ± 1.45	3.78 ± 1.80
5d	-C ₆ H ₄ F	6.78 ± 3.71	8.36 ± 2.76	7.82 ± 3.67	8.13 ± 4.24	13.4 ± 1.0
5e	-C ₆ H ₄ Cl	3.85 ± 1.80	7.20 ± 3.64	8.76 ± 3.81	8.30 ± 3.66	7.16 ± 3.69
5f	-C ₆ H ₄ Br	3.91 ± 2.11	5.42 ± 1.13	5.48 ± 1.40	6.66 ± 3.09	7.22 ± 2.48
5g	-C ₆ H ₄ CO ₂ Et	3.20 ± 1.31	5.54 ± 1.84	7.39 ± 5.01	5.04 ± 1.30	5.69 ± 2.53
5h	-C ₆ H ₄ CF ₃	4.43 ± 0.88	3.68 ± 0.86	5.38 ± 1.28	4.37 ± 1.34	5.23 ± 2.34
5i	-C ₆ H ₄ CN	34.2 ± 12.3	31.8 ± 7.1	40.1 ± 14.2	43.8 ± 19.5	30.3 ± 11.4
5j	- <i>o</i> -Tol	5.13 ± 1.49	15.2 ± 11.1	10.4 ± 1.2	6.63 ± 2.12	12.2 ± 0.3

^a IC₅₀ values (μM) were shown the mean ± SD.

本研究によりアンチモンやビスマスを含む有機-無機ハイブリッド分子の抗腫瘍活性作用に対する有効性の一部がより明らかにされた。本研究は未開拓元素の機能解明の一環であり、未知なる部分が多い。今後、生物活性に寄与する分子機構の解明につながる構造活性相関や最適な有機フレームの提案を行いながら創薬を指向した基礎研究を展開する予定である。

抗腫瘍活性. 日本薬学会第137年会 2017年3月(仙台)

謝辞

本研究は、愛知学院大学医療生命薬学研究所医療薬学助成を受けて実施した。

研究成果

論文発表

1. **T. Obata, M. Matsumura, M. Kawahata, S. Hoshino, M. Yamada, N. Kakusawa, K. Yamaguchi*, M. Tanaka*, S. Yasuike***, *J. Organomet. Chem.*, **2016**, 807, 17-21.
2. Y. Kitamura, **M. Matsumura, Yuki Murata, M. Yamada, N. Kakusawa, M. Tanaka, H. Naka, T. Obata*, S. Yasuike***, *J. Fluor. Chem.*, **2017**, 197, 1-6.

学会発表

2. 小幡 徹, 松村実生, 川幡正俊, 山田瑞希, 村田裕基, 郡司(水上)茜, 角澤直紀, 山口健太郎, 田中基裕, 安池修之: アミド結合を有する超原子価アンチモン・ビスマス化合物の合成と