

1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン誘導体の腫瘍選択性と誘導される細胞死のタイプ

○波多野一¹、石原真理子²、菊地寛高³、坂上 宏¹

¹明海大学・歯・薬理学、²明海大学・歯・基礎化学、³けやき研究所



目的

テトラヒドロイソキノリン化合物は、薬剤耐性、抗腫瘍活性、抗炎症作用、酵素阻害など幅広い活性を示すことが多くの研究者により報告されている。今回、ヒト口腔扁平上皮癌細胞を選択的に傷害する物質の探索の一環として、40種類の1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン誘導体:TQシリーズ(TQ1-20)およびTDシリーズ(TD1-20)の腫瘍選択性について検討した。

方法

細胞傷害活性:

ヒト口腔扁平上皮癌細胞(HSC-2、HSC-3、HSC-4)(理研Cell Bank)、ヒト前骨髄性白血病細胞HL-60、ヒト口腔正常細胞(歯肉線維芽細胞HGF、歯髄細胞HPC、歯根膜線維芽細胞HPLF)(明海大学倫理委員会のガイドラインに従い、歯周組織より調製)に対する50%細胞傷害濃度(CC₅₀)は、MTT法により測定した。

腫瘍選択性:

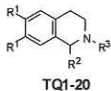
正常細胞に対するCC₅₀の平均値を癌細胞に対するCC₅₀の平均値で割って求めた。

アポトーシス誘導能:

DNAの断片化、カスパーゼの活性化により測定した。

(1) TQシリーズ(TQ1-20)

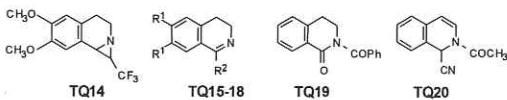
1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolines (TQ1-20)の構造



6,7位にジメトキシ基

Compd	R ¹	R ² 1位	R ³ 2位
TQ1	CH ₃ O	H	H (oxalate)
TQ2	CH ₃ O	H	CH ₃
TQ3	CH ₃ O	H	SO ₂ CH ₃
TQ4	CH ₃ O	CH ₃	SO ₂ CH ₃
TQ5	CH ₃ O	CH ₂ OH	H
TQ6	CH ₃ O	CH(OH)CF ₃	H
TQ7	H	H	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₃ -3,4-diOMe
TQ8	CH ₃ O	H トリフルオロアセチル基	CH ₂ CH ₂ C ₆ H ₅ 3,4-ジメトキシベンゾイル基
TQ9	CH ₃ O	H	COOC ₆ H ₃ -3,4-diOMe
TQ10	CH ₃ O	H	COCH ₂ C ₆ H ₃ -3,4-diOMe
TQ11	H	COCF ₃	COPh
TQ12	H	COCF ₃	COOC ₆ H ₄ -4-Cl
TQ13	CH ₃ O	COCF ₃	COOC ₆ H ₂ -2,4,6-Me ₃
TQ14	CH ₃ O	---CH(CF ₃)---	
TQ15	CH ₃ O	CH ₃	1,2-dehydro
TQ16	H	CH(OCOC ₆ H ₄ -4-Cl)CF ₃	1,2-dehydro
TQ17	H	CH(OCOC ₆ H ₄ -4-OMe)CF ₃	1,2-dehydro
TQ18	CH ₃ O	CH(OCOC ₆ H ₄ -4-Cl)CF ₃	1,2-dehydro
TQ19	H	=O	COPh
TQ20	H	CN	COCH ₃ (3,4-dehydro)

positive control



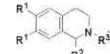
6,7-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン(TQ1-3とTQ8-10)では、2位の置換基(R³)が重要であり、2位に3,4-ジメトキシベンゾイル基が置換したTQ9が最大の腫瘍選択性を示した。1位(R²)にトリフルオロアセチル基が置換したTQ11-13は中等度の腫瘍選択性を示した。

	CC ₅₀ (μM)								TS
	Human tumor cell lines				Human normal oral cells				
	HSC-2	HSC-3	HSC-4	HL-60	HGF	HPC	HPLF		
TQ1	167±24	310±58	343±11	315±79	>364	>382	>371		>1.2±0.17
2	>400	>400	>378	>395	>386	>400	>387		>1.1±0.08
3	>355	>400	>400	>336±58	>400	>400	>400		>1.1±0.10
4	>395	>400	>400	293±93	>360	>390	>397		>1.0±0.16
5	176±82	248±19	175±31	193±179	>354	>400	>374		>2.0±0.66
6	>370	>400	>400	326±65	>400	>400	>400		>1.1±0.10
7	276±28	298±56	250±23	71±15	307±33	313±13	299±45		1.4±0.12
8	255±21	238±34	222±40	87±20	298±50	318±21	289±35		1.5±0.00
9	20±3.5	42±8.5	30±12	10±0.6	334±69	346±47	282±119		12.5±2.47
10	296±20	>397	358±63	98±32	279±59	314±5.5	303±67		1.1±0.22
11	116±19	83±7.0	82±11	32±10	272±7.0	282±22	249±69		3.4±0.61
12	161±21	166±8.6	148±43	38±8.1	348±48	>371	>325		>2.8±0.53
13	131±23	97±18	115±21	27±6.1	274±18	232±59	172±119		2.6±0.53
14	304±15	353±20	358±39	176±69	308±24	308±6.1	309±13		1.0±0.09
15	329±17	363±38	282±77	>373	>400	>400	>384		>1.2±0.10
16	209±19	155±5.0	153±12	43±4.0	287±39	285±26	291±28		1.9±0.15
17	105±25	80±17	80±15	32±3.2	264±97	209±93	184±103		3.0±0.57
18	152±29	141±44	182±47	30±3.8	269±88	261±37	226±92		2.0±0.06
19	266±11	240±49	248±31	85±17	287±27	306±11	273±32		1.4±0.10
20	>389	>400	>400	255±23	>364	>400	>377		>1.0±0.06

Each value represents mean±S.D. from three independent experiments

(2) TDシリーズ(TD1-20)

1,2,3,4-Tetrahydroisoquinolines (TD1-20)の構造



Compd	R ¹	R ²	R ³
TD1	H	CO ₂ H	H
TD2	H	CO ₂ H	COCH ₃
TD3	H	CO ₂ H	COBu ^t
TD4	H	CO ₂ H	COPh
TD5	H	CO ₂ H	COOC ₆ H ₄ -Cl-4
TD6	H	CO ₂ H	CO ₂ Bn
TD7	OCH ₃	CO ₂ H	COBu ^t
TD8	OCH ₃	CO ₂ H	COOC ₆ H ₂ Me ₃ -2,4,6
TD9	OCH ₃	CO ₂ H	COBu ^t
TD10	OCOC ₆ H ₄	CO ₂ H	COBu ^t
TD11	H	CH ₂ CO ₂ H	COBu ^t
TD12	OCH ₃	CH ₂ CO ₂ H	H
TD13	OCH ₃	CH ₂ CH ₂ CO ₂ H	COBu ^t
TD14	H	CO ₂ Et	CO ₂ Bn
TD15	OCH ₃	CO ₂ Et	COBu ^t
TD16	OCH ₃	CO ₂ Et	COOC ₆ H ₂ Me ₃ -2,4,6
TD17	OCH ₃	CH ₂ CO ₂ Et	COCH ₃
TD18	H	CH ₂ CO ₂ Et	COBu ^t
TD19	OCH ₃	CH ₂ CO ₂ CH ₃	COBu ^t
TD20	OCH ₃	CH ₂ CO ₂ Et	COBu ^t

positive control

DCA=dicyclohexylamine

カルボキシル基は活性を低下

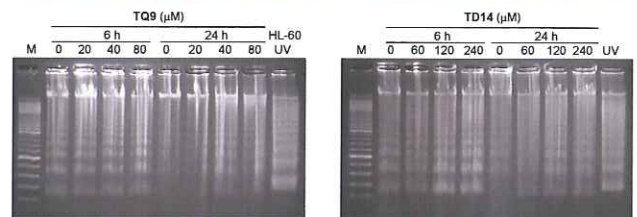
エステル基は活性を上昇

1位(R²)のカルボキシル基(-COOH)は活性を低下させるが、エステル基(-COOEt)は、活性を上げた。特に、1位がエトキシルカルボニル基で2位(R³)がベンジルオキシカルボニル基の組み合わせが最大の腫瘍選択性を示した(TD14)。

	CC ₅₀ (μM)								TS
	Human tumor cell lines				Human normal cells				
	HSC-2	HSC-3	HSC-4	HL-60	HGF	HPC	HPLF		
TD1	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400		>1.0
2	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400		>1.0
3	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400		>1.0
4	>400	>400	>400	>394	>400	>400	>400		>1.0
5	>400	>400	>400	342	>400	>400	>400		>1.0
6	>400	>400	>400	199	>400	>400	>400		>1.1
7	>400	>400	>400	>400	>400	>400	>400		>1.0
8	>385	>400	>386	131	309	330	>345		<1.0
9	>384	>376	>392	146	>400	>400	>400		<1.3
10	267	287	337	105	338	334	335		1.3
11	>400	>400	>400	>360	>400	>400	>400		>1.0
12	115	275	118	108	>400	>400	>400		>2.6
13	>400	>400	>400	>396	>400	>400	>400		>1.0
14	61	63	72	4.7	301	272	226		5.3
15	>354	>400	>400	88	>374	>382	>396		>1.2
16	68	64	83	16	120	134	108		2.1
17	>400	>400	>400	201	>400	>400	>400		>1.1
18	258	307	300	38	325	344	324		1.5
19	>353	>400	>390	112	336	>357	>355		<1.1
20	>393	>391	>373	84	314	317	315		1.1

Each value represents mean±S.D. from three independent experiments

TQ9、TD14いずれもHL-60細胞にヌクレオソーム単位のDNAの断片化を誘導した。



まとめと考察

- TQ1-20: 6,7-ジメトキシ-1,2,3,4-テトラヒドロイソキノリン(TQ1-3とTQ8-10)では、2位の置換基が重要であり、3,4-ジメトキシベンゾイル基が最大の腫瘍選択性を示した(TQ9)。1位のトリフルオロアセチル基は活性を上げた(TQ11-13)。
- TD1-20: 1位のカルボキシル基(-COOH)は活性を低下させるが、エステル基(-COOEt)は、活性を上げた。特に、1位がエトキシルカルボニル基で2位がベンジルオキシカルボニル基の組み合わせが最大の腫瘍選択性を示した(TD14)。
- 細胞死のタイプは、標的細胞により異なることが報告されている。現在、口腔扁平上皮癌細胞において誘導される細胞死のタイプについて検討中である。

謝辞

本研究の一部は、科研(基盤研究(C):坂上、No. 19592156)のサポートを得て行われた。実験の協力をしていただきました河瀬雅美教授(松山大学薬学部)、Dr. Chu Quing(中国第四軍医大学)に深謝いたします。