

# 抗腫瘍活性スクリーニングを指標とした天然物医薬品の開発研究とその生薬素材の品質評価について

東京薬科大学 竹谷 孝一

## Development of New Antitumor Drugs from Natural Sources, with Guidance of Bio-assay, and Evaluation of Their Crude Drugs

Koichi TAKEYA

Department of Pharmacognosy, Tokyo College of Pharmacy, Horinouchi 1432-1, Hachioji, Tokyo 192-03, Japan

### Abstract

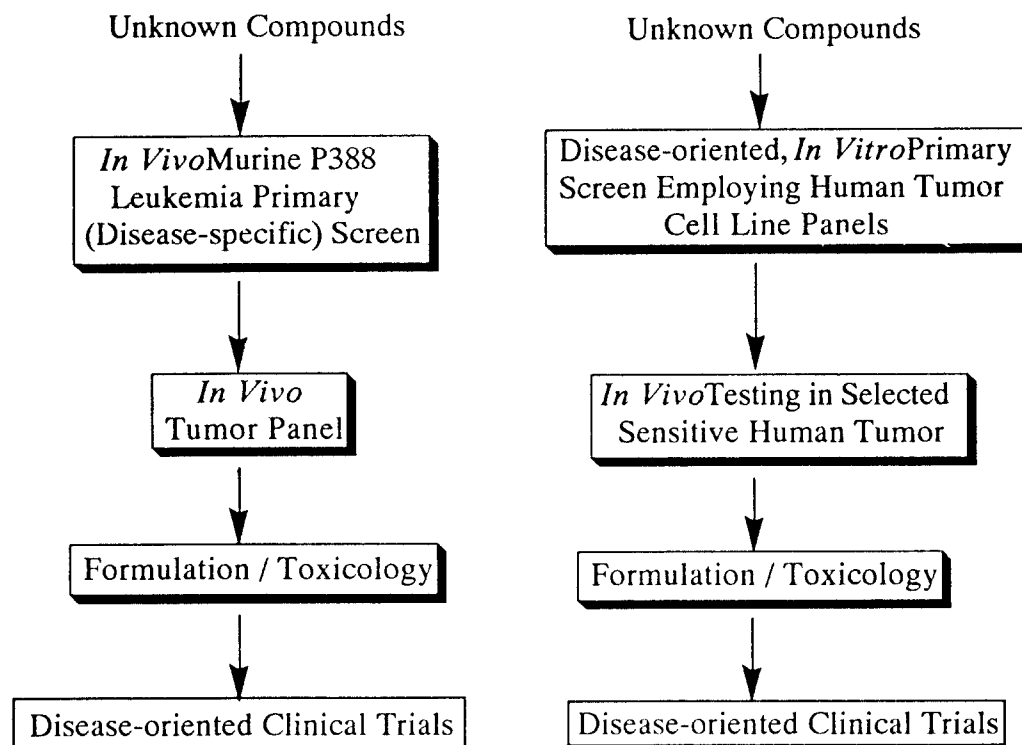
We in anticancer drug development from natural resources have conceived and used a wide variety of experimental screening systems to support our efforts during the past 20 years. Screens have been devised to address targets at the molecular, biochemical and cellular levels, both in vivo and in vitro. Screens have been essential for the experimental evaluation of the products from natural sources. In this congress, antitumor screening methods for development of new drugs from natural sources and evaluation of their crude drugs are discussed.

今日、がん治療の分野では、各種の化学療法剤、治療法などの進歩により大きな成果を上げてきているが、臨床的に大いに期待できる抗腫瘍剤の数は非常に限られているばかりでなく、抗腫瘍活性スペクトルもかなり制限され、薬剤耐性の観点からも多くの問題を抱えている。そのため、臨床現場の医師より新規な化学構造で、新規な抗腫瘍活性作用機序を有する医薬品の開発が望まれている。このような観点から天然物資源物質と化学合成品の抗腫瘍活性スクリーニングが精力的に実施されているが、合成品由来の抗腫瘍薬開発研究では、すでに抗腫瘍活性が明確になっている既知構造物質を母核構造として化学修飾や類似化合物の合成を行なっているのが現実であり、全く新しいタイプの抗腫瘍薬が開発される可能性は、ほとんど期待できない。一方、植物成分、海産生物成分および微生物生産物質などの天然物質に探索の対象を求めている研究手段では、多種多様な化合物が単離される可能性があり、世界各国の薬草に関する民族伝承知識を加味すれば、より効率的な探索手段になりえるものと考えられる。

### スクリーニングと新規医薬品の開発計画

現在臨床で使用されている抗がん物質の多くは、米国国立癌研究所 (NCI)

で確立された実験動物腫瘍を用いた *in vivo* スクリーニングにおける活性に基づいて選択され、開発されたものである。これらスクリーニング中で、マウスの白血病性細胞 (L1210, P388) を用いた *in vivo* スクリーニングが、最も広く普及し、臨床効果を予測していた。1975年から1985年まで、マウス P388 白血病モデルが、NCI計画の最初のスクリーニングとして採用されていた (Stage I)。このマウス P388 白血病モデルに対して良好な結果を示した活性物質については、他の実験動物腫瘍と数種のヒト腫瘍異種間移植を含む4ないし8種の腫瘍モデルパネルに対してのさらなる抗腫瘍試験が実施された (Stage II)。Stage IIでの腫瘍パネルの評価において、効果が認められ、広範囲の腫瘍スペクトル活性が確認された化合物は、一般に、前臨床での開発および臨床試験に対して、最優先権が与えられた。このような抗腫瘍活性物質の初期臨床試験 (Phase I/II)は、種々のタイプの癌患者についてまず試験され、引き続いて特定の癌患者についての相対的効果の評価が実施された (Phase II/III)。このように、現在、臨床で使用されている抗がん剤は、まず、特異的疾患マウスの初期スクリーニング (例えばマウス白血病モデル



Compound-oriented preclinical drug development strategy used by NCI 1975 - 1985.

New investigational disease-oriented preclinical drug development strategy.

ル P388) により選抜され、さらに種々の特定癌腫瘍モデルを志向した前臨床試験スクリーニング (Stage II)により効果を判定し、さらに特異的疾患部



## 研究用生薬の品質評価

### 1 品質管理を目的とした生薬分析の必要性とその背景

人類と病魔との長い戦いの歴史のなかで、その薬効が確かめられてきた伝統薬物である生薬は、漢方薬、機能性食品、健康食品などで利用されているが、下記の諸問題等により、その一定品質の保持には十分な注意が必要である。

#### A 原料生薬の品質と選品における問題点

##### a) 生薬の品種の相違を生じる要因

- |               |              |
|---------------|--------------|
| 1) 本草書記載の不確かさ | 4) 同効代用生薬の存在 |
| 2) 基原植物の差異    | 5) その他       |
| 3) 類似生薬の存在    |              |

##### b) 生薬の品質の変動要因

- |               |                 |
|---------------|-----------------|
| 1) 生産方法の相違    | 3) 保存期間・方法による影響 |
| 2) 調製・加工方法の優劣 |                 |

##### c) 生薬の流通経路における問題点

#### B 原料生薬の試験法

生薬製剤の有効性・安全性を保證する品質一定な安定供給には、その構成物である原料生薬の品質保證をチェックすることが少なくても必要であり、各生薬特有成分のチェックと有効成分の定量が重要となる。

##### a) 第十二改正日本薬局方における生薬

##### b) 日本薬局方外生薬規格集における生薬

##### c) 局方生薬の規格・基準

- |                                   |
|-----------------------------------|
| 1) 生薬の基原となる動植物の規定                 |
| 2) 使用部位とその性状の明示                   |
| 3) 一般試験法に記載される生薬試験法               |
| 確認試験    定量試験    乾燥減量    精油含量      |
| 純度試験    エキス含量    灰分    アルカロイド含量など |

#### C 生薬品質評価のための分析方法

生薬の品質評価は、その有効成分レベルで実施されるのが理想であるが、一生薬中には多数の成分が含有されており、産地、栽培条件、品種間における有効成分の種類とその含量を明確に整理することは非常に困難であるのが現実である。しかしながら、理想とする生薬品質評価に少しでも近づけるため、既知有効成分または各生薬の特有成

分をもとに実施されている。

- a) 五感法
- b) 形態学的評価法
- c) 理化学的評価法
  - 1) 薄層クロマトグラフィー (TLC) : TLC クロマトスキャンナー法  
シンクログラフ法
  - 2) ガスクロマトグラフィー法 (GC) : GLC-MS
  - 3) 液体クロマトグラフィー法 (LC) : HPLC
  - 4) その他の機器分析
- d) 理化学的方法と形態学的方法の比較
- e) 自主規格設定における立案経過例

## 2 生薬分析に於ける薄層クロマトグラフィーの応用

薄層クロマトグラフィー (TLC), ガスクロマトグラフィー (GC), 高速液体クロマトグラフィー (HPLC), 等速電気泳動 (IPP) などの理化学的分析法が生薬の品質評価で利用されているが, その品質評価では生薬の多成分中の目的物だけを検出するため, 分離能・検出感度の観点からHPLC法が主流であるのが現実である。しかしながら, 実験室で日常的に簡便な有機化合物の分析法として使用されているTLCは,

- 1: 特殊な装置を必要とせず, 安価である。
- 2: 各種溶媒での最適分離条件の検討が容易である。
- 3: 各種担体での最適分離条件の検討が容易である。
- 4: 化合物特有の検出試薬が適用できる。
- 5: 分析用試料液の調製が簡便である。

など多くの利用できる利点をもっている。また, HPTLCの出現により, 分離能が飛躍的にアップしたことより生薬品質評価での定性のみならずTLC-デンストメトリーを利用した定量にもっと適用されても良いと思われる。

- A 分析試料の調製
  - a) 試料生薬の採取
  - b) 分析用試料生薬の調製
  - c) 分析用試料液の調製: 抽出方法について  
抽出溶媒について

### B 生薬分析用標準について

### C 生薬の品質評価における実例

局方確認試験・純度試験で採用されている薄層クロマトグラフ法の実例を中心として生薬分析における分析試料液の調製例、展開溶

媒選択, 化合物検出などについて説明する。

D 生薬配合製品における品質評価

- a) 配合生薬主成分の確認分析
- b) 生薬配合製品のパターン分析

③ 液体クロマトグラフィーでの分離溶媒最適化予測における薄層クロマトグラフィーの応用

④ 生薬分析に関する情報の入手

参考図書

- 1) "第十二改正日本薬局方解説書" 広川書店(1991).
- 2) "漢方薬の技術と市場" C M C (1981).
- 3) "漢方薬の評価と開発技術" C M C (1983).
- 4) "生薬利用と新医薬品開発" C M C (1988).
- 5) "繁用生薬の成分定量" 広川書店(1989).
- 6) "日本薬局方外生薬規格 1 9 8 9" 薬事日報社(1989).
- 7) "中薬検査方法専集(二) 製剤薄層層板法" 中華民国行政院衛生署藥物食品検査局(1978).
- 8) "Plant Drug Analysis" Springer-Verlag (1984).

昨年に引き続き, 糸川研究室の最近の論文を記載しておく。

- 1) H.Morita, S.Nagashima, K.Takeya and H.Itokawa; Astins A and B, Antitumor Cyclic Pentapeptides from *Aster tataricus*, Chem.Pharm.Bull., **41**(5),992-993 (1993).
- 2) H.Itokawa, K.Kondo, Y.Hitotsuyanagi, A.Nakamura, H.Morita and K.Takeya; Preparation and Cytotoxicity of Cyclic Hexapeptides, RA Derivatives, Chem.Pharm.Bull., **41**(7),1266-1269(1993).
- 3) H.Morita, K.Matsumoto, K.Takeya and H.Itokawa; Azafluoranthene Alkaloids from *Cissampelos pareira*, Chem.Pharm.Bull., **41**(7),1307-1308(1993).
- 4) H.Itokawa, K.Kondo, Y.Hitotsuyanagi, M.Isomura and K.Takeya; Studies on RA Derivatives. V. Synthesis and Antitumor Activity of Ala<sup>2</sup>-Modified RA-VII Derivatives, Chem.Pharm.Bull., **41**(8),1402-1410(1993).
- 5) H.Morita, K.Matsumoto, K.Takeya, H.Itokawa and Y.Itaka; Structures and Solid State Tautomeric Forms of Two Novel Antileukemic Tropoloisoquinoline Alkaloids, Pareirubines A and B, from *Cissampelos pareira*, Chem.Pharm.Bull., **41**(8),1418-1422(1993).
- 6) H.Morita, K.Matsumoto, K.Takeya and H.Itokawa; Conformation of Tropolone Ring in Antileukemic Tropoloisoquinoline Alkaloids, Chem.Pharm.Bull., **41**(8),

- 1478-1480(1993).
- 7) H.Itokawa, Z.Z.Ibraheim, Y.-F.Qiao and K.Takeya; Anthraquinones, Naphthohydroquinones and Naphthohydroquinone Dimers from *Rubia cordifolia* and Their Cytotoxic Activity, *Chem.Pharm.Bull.*, **4** 1(10),1869-1872(1993).
  - 8) K.Matsumoto, H.Morita, K.Takeya and H.Morita; Eudesm-11-en-2,4a-diol from *Nardostachys chinensis*, *Phytochemistry*, **3** 4(2),567-568(1993).
  - 9) K.Takeya, T.Yamamiya, H.Morita and H.Itokawa; Two Antitumor Bicyclic Hexapeptides from *Rubia cordifolia*, *Phytochemistry*, **3** 3(3),613-615(1993).
  - 10) H.Morita, E.Kishi, K.Takeya, H.Itokawa and Y.Iitaka; Highly Oxygenated Quassinoids from *Eurycoma longifolia*, *Phytochemistry*, **3** 3(3),691-696(1993).
  - 11) H.Morita, E.Kishi, K.Takeya, H.Itokawa and Y.Iitaka; Squalene Derivatives from *Eurycoma longifolia*, *Phytochemistry*, **3** 4(3),765-771(1993).
  - 12) H.Morita, S.Nagashima, O.Shirota, K.Takeya and H.Itokawa; Two Novel Monochlorinated Cyclic Pentapeptides, Astins D and E from *Aster tataricus*, *Chem. Lett.*, **1** 993(11), 1877-1880.
  - 13) H.Itokawa, O.Shirota, K.Ichitsuka, H.Morita and K.Takeya; Oligo-Nicotinated Sesquiterpene Polyesters from *Maytenus ilicifolia*, *J.Nat.Prod.*, **5** 6(9),1479-1485 (1993).
  - 14) H.Itokawa, X.-R.Qin, H.Morita and K.Takeya; C<sub>18</sub> and C<sub>19</sub> Quassinoids from *Eurycoma longifolia*, *J.Nat.Prod.*, **5** 6(10),1766-1771(1993).
  - 15) H.Itokawa, O.Shirota, H.Morita, K.Takeya and Y.Iitaka; Isolation, Structural Elucidation and Conformational Analysis of Sesquiterpene Pyridine Alkaloids from *Maytenus ebenifolia* Reis. X-Ray Molecular Structure of Ebenifoline W-I, *J.Chem.Soc. Perkin Trans.1*, 1247-1254(1993).
  - 16) H.Itokawa, K.Kondo, Y.Hitotsuyanagi and K.Takeya; Preparation of [Cys<sup>2</sup>]-RA-VII; the First Sulfur Containing Analogue of RAs Possessing Antitumor Activity, *Heterocycles*, **3** 6(8),1837-1843(1993).