

## スチルベン類のエストロゲン作用における構造活性相関ならびに その生殖器への影響

佐能正剛<sup>1)</sup>、杉原数美<sup>1)</sup>、北村繁幸<sup>1)</sup>、吉原新一<sup>1)</sup>、藤本成明<sup>2)</sup>、渡辺敦光<sup>2)</sup>、太田 茂<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>広島大・医・総合薬 <sup>2)</sup>広島大・原医研

【目的】前回の本研究会において、*trans-stilbene* (TS) が動物肝酵素によって代謝的に活性化されることで、エストロゲン活性が発現されることを示した。本研究では、さらにスチルベン関連化合物のエストロゲン前駆物質としての性格を明確にするとともに、スチルベン類の水酸化体の構造活性相関及びこれらの化合物のマウス *in vivo* での生体への影響についても検討した。

【方法】エストロゲン活性は被験物質を、ヒト乳癌細胞 MCF-7 を用いた ERE レポーターアッセイで測定した。また、あらかじめ cytochrome P450 発現ベクターを導入した MCF-7 を用いて薬物代謝系の存在下におけるエストロゲン活性の検討を行った。また、ラット子宮サイトソールを用いた competitive estrogen receptor binding assay も行った。*in vivo* 実験では、被験物質をマウスに投与し、子宮及び精巣における影響を観察した。

【結果・考察】スチルベン関連化合物のエストロゲン活性は以下のように分類された。

1) 高活性化化合物: DES、4-hydroxy-TS、4,4'-dihydroxy-TS、4,4'-dihydroxy- $\alpha$ -methyl-TS、hexestrol、2) 中活性化化合物 : resveratrol、4-amino-TS、4-nitro-TS、4-hydroxyazobenzene、3) 低活性化化合物 : stilbene methanol、4,4'-dimethoxy-TS、4) 代謝的活性化を要求する化合物 (これらは CYP により代謝変換され、エストロゲン活性が増強される) : TS、TSoxide、azobenzene、dibenzyl。またこれらの化合物の中で、DES、4-hydroxy-TS、4,4'-dihydroxy-TS 投与群で子宮重量増加、子宮膜上皮の増生が認められたが TS ではそのような影響はみられなかった。一方、精巣ではいずれの投与群においても顕著な影響は認められなかった。以上の結果より、TS 誘導体のエストロゲン活性に関して *in vitro*、*in vivo* 両系において 1) 4 位水酸化体は ER との高い親和性を獲得し、顕著なエストロゲン活性を示した。2) TS のオレフィン部の脂溶性の増大に従ってエストロゲン活性は上昇した。3) 脂溶性部位を持つ芳香族化合物はエストロゲン前駆物質の候補になりうることを示唆された。

### Structure-activity relationships and effects of reproductive organs for estrogenic stilbenes

seigo Sanoh<sup>1)</sup>, Kazumi Sugihara<sup>1)</sup>, Shigeyuki Kitamura<sup>1)</sup>, shin'ichi Yoshihara<sup>1)</sup>, Nariaki Fujimoto<sup>2)</sup>, Hiromitsu Watanabe<sup>2)</sup>, Shigeru Ohta<sup>1)</sup>

<sup>1)</sup>Institute of Pharmaceutical Science, Hiroshima University, School of Medicine <sup>2)</sup>Research Institute for Radiation Biology and Medicine, Hiroshima University

In this study, we demonstrated the relationship between *in vitro* estrogenic activity and the structure of stilbene (TS) derivatives using luciferase reporter assay in human breast cancer cell line MCF-7 and ER competitive binding assay. 4-Hydroxy-TS, 4,4'-dihydroxy-TS and other hydroxylated derivatives of TS exhibited significant estrogenic activities. 4-Nitrostilbene and 4-aminostilbene which have no hydroxy group exhibited weak estrogenic activities. Alkyl groups attached to the olefin moiety in stilbenes need to show the maximal estrogenic activity. For example, DES showed highest activity in all stilbenes. In contrast, TS, TS oxide and azobenzene were negative in MCF-7 assay. However these compounds exhibited estrogenic activity in MCF-7 transfected with P450 expression vector. We can explain that the aromatic compounds have a possibility of proestrogenic character if they were hydroxylated by cytochrome P450. Furthermore, we demonstrated *in vivo* estrogenic activity of stilbenes using the uterotrophic assay. The uterine response caused by the hydroxylated stilbenes was accompanied by an increase in thickness of epithelial cell layers. However, TS itself affected neither uterine weight nor histological changes of the uterus.