

令和 4 年 6 月 3 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2021

課題番号：19K15690

研究課題名(和文) がん細胞への配位子送達をトリガーとする抗がん剤の細胞内合成

研究課題名(英文) Intracellular synthesis of anti-cancer agent by ligand delivery chemistry

研究代表者

小関 良卓 (Koseki, Yoshitaka)

東北大学・多元物質科学研究所・助教

研究者番号：80780634

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では副作用の無い抗がん治療法の開発へ向けて、抗がん活性物質であるSN-38の分子骨格をがん細胞内で構築することを目指した研究に取り組み、以下の成果を得た。1) 既存の合成法よりも短工程でSN-38の合成が可能な新規合成法を確立した。2) SN-38の部分構造を用いた検討により、パラジウム触媒を用いた条件により骨格形成反応が進行することを見出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、がん治療に使用されているSN-38を既存の手法よりも簡便に合成する新規合成法の開発した。本手法を応用することで、将来的により安価にがん治療を受けることができるようになることが期待される。

研究成果の概要(英文)：This study aimed to synthesize the SN-38, an anticancer agent, in cancer cells for anticancer therapy without side effects. The results of this study were summarized as follows: 1) A new synthesis method has been established that can synthesize SN-38 in a shorter process than the existing synthesis method. 2) It was found that the skeleton formation reaction proceeds with a palladium catalyst by using the partial structure of SN-38.

研究分野：有機合成化学

キーワード：有機合成 ドラッグデリバリーシステム

1. 研究開始当初の背景

がんの薬物治療を困難にしている最大の障壁は副作用の発現である。一般的に抗がん活性の高い薬物は同時に副作用も強力な、いわば諸刃の剣であり、この問題を回避するために世界中の研究者が研究を進めてきた。例えば、最近盛んに開発が進められている分子標的薬はがん細胞への選択性を示す薬剤が見出されているものの、やはり副作用の発現は避けられない。副作用の要因としては、がんの生じている腫瘍組織以外の部位へ抗がん剤が集積することにある。そこで、抗がん剤を腫瘍組織へ選択的に送達するためのドラッグデリバリーシステムに関する研究が進められており、ナノ粒子に抗がん剤を内包させたナノ薬剤の開発によって、腫瘍組織への到達率が大幅に向上することが明らかになってきた。しかしながら、ナノ薬剤であっても腫瘍組織以外の主に肝臓等の臓器へナノ粒子の集積が起こるため、正常組織中での抗がん剤の放出による副作用の発現が懸念される。したがって、既存のアプローチとは異なる、新たな抗がん剤の開発が求められている。

2. 研究の目的

本研究では、がん細胞内で選択的に活性の無い化合物から抗がん剤を合成すれば副作用の発現を抑制できるのではないかとという着想に基づき、がん細胞内の鉄イオンと錯体を形成して高い反応性を示す配位子の探索、および、鉄錯体によるカップリング反応をがん細胞内で進行させる手法の開発を目的とした。

3. 研究の方法

(1) SN-38 前駆体の合成

SN-38 は 5 環性アルカロイドであり、本研究では、AB 環のキノリンフラグメントおよび DE 環のラクタムフラグメントをそれぞれ合成し、両フラグメントのカップリング反応により中央の C 環部分を合成する計画を立てた。キノリンフラグメントは光フリース反応によるアシルケトン形成を鍵反応として合成し、ラクタムフラグメントは不斉シアノシリル化反応を経由して合成する経路を考案した。

(2) 分子骨格形成反応の検討

モデル基質として SN-38 の BD 環構造を有する化合物を用いて C 環構築反応の検討を行った。最終的にがん細胞内での反応を目指していることから、生体環境に近いリン酸緩衝生理食塩水 (PBS) を溶媒とし、一般的な細胞培養の温度である 37 °C に反応温度を固定して反応条件を検討した。

4. 研究成果

(1) SN-38 前駆体の合成

AB 環キノリンフラグメントの合成

SN-38 の AB 環合成では、*p*-アニシジンを出発原料とし、プロピオン酸を用いて対応するアミドを定量的に得た後に、光フリース反応を検討した。種々の条件検討の結果、アセトニトリル中、室温で 365 nm の紫外光照射により光異性化反応が進行し、最大収率 34% でエチルケトンが得られた。別法として、*p*-アニシジンに対する菅沢反応により、アニリンのオルトアシル化に成功し、エチルケトンの合成に成功した。続いて、エチルマロニルクロリドを用いてアミドを調製し、ロビンソン環化によりラクタムを得た後に、POCl₃ を作用させることで、AB 環のキノリンフラグメントの合成に成功した。DE 環とのカップリングの際には、エチルエステルの還元によりアルコールへと変換した後に、臭素化することでカップリング反応に供するフラグメントとした。

DE 環ラクタムフラグメントの合成

SN-38 の DE 環合成では、2-フルオロピリジンを出発原料とし、ハロゲンダンス反応により 3 位へホルミル基、4 位へヨウ素を導入した。3 位のホルミル基を還元してアルコールとし、TBS 基で保護した。続いて、4 位のヨウ素を足掛かりにターボグリニャール試薬を調製し、プロピオン酸クロリドと反応させることでエチルケトンへと導いた。この基質を用いて、Feng らの手法に従って TMS シアノヒドリン中間体を合成し、最後に、酸処理を行うことで DE 環のラクタムフラグメントの合成に成功した。

SN-38 前駆体の合成および全合成

AB 環、DE 環の各フラグメントの合成に成功したので、続いて、カップリング反応を行った。塩基として K_2CO_3 を用いて DMF 中で反応させることで、良好な収率で SN-38 前駆体であるカップリング生成物を得た。また、この SN-38 前駆体から溝呂木-Heck 反応および 10 位のメトキシ基の脱保護を経て、SN-38 の全合成を達成した。

(2) 分子骨格形成反応の検討

2-クロロニコチンアルデヒドを還元、臭素化した後に、2-ピリドンと反応させることで、SN-38 の BD 環モデル基質を調製し、C 環構築反応を検討した。まず、トルエン中、酢酸パラジウム、トリフェニルホスフィンを用いて加熱することで、目的に BCD 環が得られることが分かった。続いて、鉄触媒下での BCD 環合成を検討した。 $FeCl_2 \cdot 4H_2O$ を用いて、水または PBS を溶媒として、様々な配位子分子を検討したが、目的の反応は進行せず、原料を回収するのみであった。

(3) まとめ

本研究では、抗がん活性物質である SN-38 の新規合成法の開発に成功した。今後、鉄触媒を用いた SN-38 の骨格形成反応を開発することで、がん細胞内での選択的な SN-38 分子骨格が達成されるものと期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計16件（うち査読付論文 15件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Koseki Yoshitaka, Ikuta Yoshikazu, Taemaitree Farsai, Saito Nozomi, Suzuki Ryuju, Dao Anh Thi Ngoc, Onodera Tsunenobu, Oikawa Hidetoshi, Kasai Hitoshi	4. 巻 572
2. 論文標題 Fabrication of size-controlled SN-38 pure drug nanocrystals through an ultrasound-assisted reprecipitation method toward efficient drug delivery for cancer treatment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Journal of Crystal Growth	6. 最初と最後の頁 126265 ~ 126265
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jcrysgro.2021.126265	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Taemaitree Farsai, Koseki Yoshitaka, Dao Anh Thi Ngoc, Kasai Hitoshi	4. 巻 50
2. 論文標題 Serum Albumin-treated SN-38 Prodrug Nanoparticles toward Cancer Treatment	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 1555 ~ 1558
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.210253	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tanita Keita, Koseki Yoshitaka, Kamishima Takaaki, Kasai Hitoshi	4. 巻 49
2. 論文標題 Tropone Skeleton Enhances the Dispersion Stability of Nano-prodrugs	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 222 ~ 224
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.190876	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Taemaitree Farsai, Fortuni Beatrice, Koseki Yoshitaka, Fron Eduard, Rocha Susana, Hofkens Johan, Uji-i Hiroshi, Inose Tomoko, Kasai Hitoshi	4. 巻 12
2. 論文標題 FRET-based intracellular investigation of nanoprodrugs toward highly efficient anticancer drug delivery	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Nanoscale	6. 最初と最後の頁 16710 ~ 16715
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/d0nr04910g	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Taemaitree Farsai, Koseki Yoshitaka, Saito Nozomi, Suzuki Ryuju, Dao Anh Thi Ngoc, Kasai Hitoshi	4. 巻 706
2. 論文標題 Self-assemble tannic acid and iron complexes on pure nanodrugs surface prevents aggregation and enhances anticancer drug delivery efficiency	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Crystals and Liquid Crystals	6. 最初と最後の頁 116 ~ 121
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15421406.2020.1743446	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Tanita Keita, Koseki Yoshitaka, Shimizu Kazue, Umezawa Hirohito, Kasai Hitoshi	4. 巻 706
2. 論文標題 Fabrication of Hinokitiol-modified podophyllotoxin nano-prodrugs having a high drug loading capacity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Molecular Crystals and Liquid Crystals	6. 最初と最後の頁 79 ~ 85
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1080/15421406.2020.1743441	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小関 良卓, 笠井 均	4. 巻 19
2. 論文標題 抗がん治療のための新規DDS製剤ナノ・プロドラッグ	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The Bulletin of the Society of Nano Science and Technology (ナノ学会会報)	6. 最初と最後の頁 15 ~ 20
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 小関良卓, Farsai Taemaitree, Beatrice Fortuni, Susana Rocha, 雲林院宏, 猪瀬朋子, 笠井均	4. 巻 52
2. 論文標題 ナノ・プロドラッグ: 新たな抗がん薬輸送システムの細胞内挙動	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 細胞	6. 最初と最後の頁 47 ~ 51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Y. Koseki, Y. Ikuta, L. Cong, M. Takano, H. Tada, M. Watanabe, K. Gonda, T. Ishida, N. Ohuchi, K. Tanita, F. Taemaitree, A. T.N. Dao, T. Onodera, H. Oikawa, H. Kasai	4. 巻 92
2. 論文標題 Influence of Hydrolysis Susceptibility and Hydrophobicity of SN-38 Nano-Prodrugs on Their Anticancer Activity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Bull. Chem. Soc. Jpn.	6. 最初と最後の頁 1305-1313
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/bcsj.20190088	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計30件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 小関良卓、笠井均
2. 発表標題 Fabrication SN-38 Nano-Prodrugs for Anticancer Drug Delivery
3. 学会等名 令和2年度化学系学協会東北大会 (招待講演)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshitaka Koseki, Yoshikazu Ikuta, Farsai Taemaitree, Nozomi Saito, Ryuju Suzuki, Anh Thi, Ngoc Dao, Tsunenobu Onodera, Hidetoshi Oikawa, Hitoshi Kasai
2. 発表標題 Development of Fabrication Technique for Drug Nanoparticles toward Efficient Cancer Therapy
3. 学会等名 The 8th Asian Conference on Crystal Growth and Crystal Technology
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 戸田成美、小関良卓、笠井均
2. 発表標題 SN-38 の DE 環の部分合成
3. 学会等名 日本化学会 第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yoshitaka Koseki, Yoshikazu Ikuta, Liman Cong, Mayumi Takano-Kasuya, Hiroshi Tada, Mika Watanabe, Kohsuke Gonda, Takanori Ishida, Noriaki Ohuchi, Keita Tanita, Farsai Taemaitree, Anh Thi Ngoc Dao, Tsunenobu Onodera, Hidetoshi Oikawa, Hitoshi Kasai
2. 発表標題 Fabrication SN-38 Nano-Prodrugs and Their Anticancer Activity
3. 学会等名 日本化学会 第100春季年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小関良卓, 笠井均
2. 発表標題 Fabrication of cholesterol-modified drug nanoparticles
3. 学会等名 2019年度化学系学協会東北大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関