

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 14 日現在

機関番号：34413

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2009～2013

課題番号：21590130

研究課題名(和文) リボザイムの機能解明と乳癌抑制作用を持つイミダゾールC-ヌクレオシドの合成

研究課題名(英文) Probing the catalytic mechanism of ribozymes and breast cancer inhibitory effects based on imidazole C-nucleosides

研究代表者

春沢 信哉 (Harusawa, Shinya)

大阪薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：90167601

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、テトラゾールを核酸塩基に組み込むことで、新たな活性中心の決定へと展開しました。その中で、テトラゾールヌクレオシドの合成、不活性ニトリルからテトラゾール合成、イミダゾールがDNAに与える影響を研究しました。

一方、乳癌の増殖抑制物質の研究では、H3RアンタゴニストOUP-186の開発に成功しました。OUP-186及びその誘導体は、著しい乳癌細胞増殖効果があることを確認しました。

研究成果の概要(英文)：Tetrazole C-nucleoside phosphoramidites, efficient synthesis of tetrazoles, and imidazole base pairing effects on DNA, and synthesis of H3R antagonist (OUP-186) as anti-cancer agents were carried out.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：イミダゾール C-リボヌクレオシド リボザイム テトラゾール ヒスタミンH3受容体 アンタゴニスト 乳癌

1. 研究開始当初の背景

イミダゾールは、酸-塩基触媒であることに着目し、イミダゾールC-ヌクレオシドを用いて、リボザイムの中心塩基にイミダゾールを組み込み、その触媒機構を解明する手法の開発に成功していた。一方、イミダゾールは、ヒスタミン関連化合物の重要官能基であることから、ヒスタミン H₃ 受容体(H₃R)アンタゴニストの創製研究を行っていた。

2. 研究の目的

イミダゾールを基盤とすることで、リボザイムの触媒機構の解明と乳癌増殖抑制作用物質の創製にある。

3. 研究の方法

乳癌増殖抑制作用物質の創製研究では、我々の大阪薬科大学・有機薬化学研究室でデザイン、合成した新規化合物を同施設の生体機能解析学研究室(高岡昌徳教授)のもとで、乳癌増殖抑制作用を調べた。また、リボザイムの触媒機構の研究は、英国 Dundee Univ. David. M. J. Lilley 教授と Edingburg Napier Univ. Zhengyun Zhao 博士との共同研究である。

4. 研究成果

我々は、イミダゾールを持つC-ヌクレオシドホスホロアミダイトからリボザイムの中心塩基をイミダゾールに置換する化学遺伝的手法を確立しています。本研究では、テトラゾールを核酸塩基に組み込むことで、新たな活性中心の決定へと展開しました。その中で、テトラゾールヌクレオシドの合成、不活性ニトリルからのテトラゾール合成、イミダゾールがDNAに与える影響へと研究を拡張することができました。

一方、乳癌の増殖抑制物質の研究では、新規非イミダゾールH₃Rアンタゴニストの開発を行い、H₃Rアンタゴニスト OUP-186 の開発に成功しました。OUP-186 及びその誘導体は、著しい乳癌細胞増殖効果があることを確認した。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計 15 件)

1. S. Harusawa, H. Yoneyama, Y. Usami, D. Yamamoto, Z. Zhao.
Synthesis of C₄-linked C₀- and C₂-imidazole 2'-deoxyribonucleoside phosphoramidites and imidazole base pairing effects on DNA
Synthesis, *in press* (SS-2014-05-0308-OP).

2. S. Harusawa, K. Sawada, T. Magata, H. Yoneyama, L. Araki, Y. Usami, K. Hatano, K.

Yamamoto, D. Yamamoto, A. Yamatodani.
Synthesis and evaluation of
N-alkyl-S-[3-(piperidin-1-yl)propyl]isothioureas:
High affinity and human/rat species-selective
histamine H₃ receptor antagonists
Bioorg. Med. Chem. Lett., **23**, 6415-6420 (2013).

3. H. Yoneyama, Y. Usami, S. Komeda, S. Harusawa.
Efficient Transformation of Inactive Nitriles into 5-Substituted-1*H*-tetrazoles Using Microwave Irradiation and Their Applications
Synthesis, **45**, 1051-1059 (2013).

4. 春沢信哉、米山弘樹、宇佐美吉英
マイクロウエーブを活用したいくつかの
機能性分子の合成
大阪薬科大学紀要 Vol 7, 109-127 (2013).

5. 藤嶽美穂代、春沢信哉
LSI/FAB を用いる多官能性ヌクレオシドホ
スホロアミダイトのマススペクトル測定
薬学雑誌, **133**, 823-841 (2013).

6. Y. Usami, R. Watanabe, Y. Fujino, M. Shibano, C. Ishida, H. Yoneyama, S. Harusawa, H. Ichikawa.
Divergent Synthesis and Evaluation of Inhibitory Activities against Cyclooxygenases-1 and -2 of Natural Withasomnines and Analogues
Chem. Pharm. Bull., **60**, 1550-1560 (2012).

7. S. Harusawa, H. Yoneyama, D. Fujisue, M. Nishiura, M. Fujitake, Y. Usami, Z. Zhao, S. A. McPhee, T. J. Wilson, D. M. Lilley.
Synthesis of novel tetrazole C₅-linked C₀- and C₂-ribonucleoside Phosphoramidites Using MePOM and POM groups for probing RNA catalysis
Tetrahedron Lett., **53**, 5891-5894 (2012).

8. Y. Usami, H. Ichikawa, S. Harusawa.
Heck-Mizoroki Reaction of 4-Iodo-1*H*-pyrazoles
Heterocycles, **83**, 827-835 (2011).

9. S. Harusawa, K. Fujii, M. Nishiura, L. Araki, Y. Usami, Z. Zhao, D. M. J. Lilley.
Synthesis of Imidazole C₁- and C₃-Ribonucleoside Phosphoramidites for Probing Catalytic Mechanism in Ribozyme.
Heterocycles, **83**, 2041-2055 (2011).

10. 藤嶽美穂代、春沢信哉
イミダゾールC-ヌクレオシドホスホロアミ
ダイトのマススペクトル測定の実際
大阪薬科大学紀要 Vol 5, 49-57 (2011).

11. S. Harusawa, C. Kojima, K. Fujii, Y. Yamashita, T. Tanaka, L. Araki, T. Yoshimura, M. Sakaguchi, Y. Usami, M. Takaoka
Synthesis of Two Estradiol-imidazole C-Ribonucleoside Hybrid Compounds Exhibiting Inhibitory Effects Against Type I 17 β -Hydroxysteroid Dehydrogenase
Heterocycles, **81**, 2817-2830 (2010).
12. L. Araki, Z. Zhao, D. M. Lilley, S. Harusawa
Efficient Synthesis of 2'-O-Cyanoethylated Imidazole C-Ribonucleoside Phosphoramidite: A Practical Building Block for Probing the Catalytic Mechanism of Ribozymes
Heterocycles, **81**, 1861-1869 (2010).
13. 荒木理佐、春沢信哉、
生体機能性分子を目的としたイミダゾール C-ヌクレオシドの合成研究
薬学雑誌, **130**, 1707-1724 (2010).
14. L. Araki, K. Morita, M. Yamaguchi, Z. Zhao, T.J. Wilson, D. M. Lilley, S. Harusawa
Synthesis of Novel C4-Linked C₂-Imidazole Ribonucleoside Phosphoramidite and Its Application to Probing the Catalytic Mechanism of a Ribozyme
J. Org. Chem., **74**, 2350-2356 (2009).
15. 春沢信哉、荒木理佐、
ヒスタミン H₄ 受容体リガンドの開発とその現状
大阪薬科大学紀要 Vol **3**, 65-78 (2009).
- 〔学会発表〕(計 31 件)
1. Synthesis of C4-linked C₀- and C₂-imidazole 2'-deoxyribonucleoside phosphoramidites and imidazole effects on DNA base pairing
S. Harusawa, 15th Tetrahedron Symposium, 24-27 June 2014, London, UK.
2. S-アルキル-N-アルキルイソチオウレアの効率的合成法とヒト/ラット選択的ヒスタミン H₃ アンタゴニストの創製
米山弘樹, 第 12 回次世代を担う有機化学シンポジウム、東京、2014 年 5 月 23-24 日.
3. シアノホスフェートから β -アジドテトラゾールの生成とその反応性
沼田雅博、日本薬学会 134 年会、熊本、2014 年 3 月 27-30 日
4. ヒスタミン H₃ 受容体アンタゴニストのための S-アルキル-N-アルキルイソチオウレア誘導体の改良合成法
上村健司、日本薬学会 134 年会、熊本、2014 年 3 月 27-30 日、
5. イミダゾール 2'-デオキシリボヌクレオシドホスホロアミダイトの合成とイミダゾール含有オリゴマーの基礎研究
米山弘樹、日本薬学会 134 年会、熊本、2014 年 3 月 27-30 日
6. Synthesis of New Types of Azole C₂-Ribonucleoside Phosphoramidites for Probing RNA Catalysis
H. Yoneyama, 14th Tetrahedron Symposium, 21-24, October 2013, Seoul, Korea.
7. ヒト H₃R アンタゴニスト OUP186 のヒト/ラット種選択性に関する分子モデリング研究
春沢信哉, 第 17 回日本ヒスタミン学会、2013 年 11 月 22, 23 日, 松江。
8. 強力かつヒト/ラット選択的ヒスタミン H₃ 受容体アンタゴニスト OUP-186 の合成、薬理的評価及び分子モデリング解析
春沢信哉、第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム、2013 年 11 月 20 ~ 22 日, 広島。
9. リボザイム触媒機構解明のためのイミダゾール/トリアゾール(E)-ビニールリボヌクレオシドホスホロアミダイトの合成
米山弘樹, 第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会、同志社女子大・薬、2013 年 10 月 12 日.
10. E₂-イミダゾール-C₂-ヌクレオシドハイブリッド化合物の合成とヒト乳癌細胞に対する増殖抑制
沼田雅博、第 63 回日本薬学会近畿支部総会・大会、同志社女子大・薬、2013 年 10 月 12 日.
11. MW を用いる不活性ニトリルから 5-アルキル-1H-テトラゾールの効率合成と RNA 機

能性分子への応用

米山弘樹, 第 11 回次世代を担う有機化学シンポジウム、東京、長井記念ホール、2013 年 5 月 24-25 日.

12. Efficient Transformation of Inactive Nitriles into 5-Substituted-1H-tetrazoles using Microwave Irradiation and their Applications
S. Harusawa, 14th Tetrahedron Symposium, 26-29 June 2013, Viena, Austria.

13. OUP-186 を用いるヒトとラットのヒスタミン H₃ 受容体の違いについての考察
曲田拓司、日本薬学会 133 年会、横浜、2013 年 3 月 27-30 日、

14. トリアゾール C-ヌクレオシドホスホロアミダイトの合成
藤末大貴、日本薬学会 133 年会、横浜、2013 年 3 月 27-30 日.

15. リボザイム触媒機構解明のためのトリアゾール C₂-リボヌクレオシドホスホロアミダイト合成
米山弘樹, 日本薬学会 133 年会、横浜、2013 年 3 月 27-30 日.

16. POM 及び MePOM 基を用いるテトラゾール C_nホスホロアミダイトの合成研究
米山弘樹、第 38 回反応と合成の進歩シンポジウム、東京、2012 年 11 月 5-6 日.

17. マイクロウエーブを活用した 2,3 の機能性分子の合成
春沢信哉, 第 31 回 Microwave Surgery 研究会、大阪大学中之島センター、2012 年 11 月 8-9 日.

18. リボザイム触媒機構解明のためのテトラゾールリボヌクレオシドホスホロアミダイト合成

米山弘樹、第 62 回日本薬学会近畿支部総会・大会、神戸学院大学、2012 年 10 月 22 日

19. OUP-186: Histamine H₃ receptor antagonist nonactive in rat but specifically potent in human
S. Harusawa, 13th Tetrahedron Symposium, 26-29 June 2012, Amsterdam, Netherlands.

20. 5-置換テトラゾールの効率合成と N(2)-位置選択的保護の研究
米山弘樹、日本薬学会 132 年会、北海道、2012 年 3 月 28-31 日.

21. Me-POM 基を用いるテトラゾール C-ヌクレオシドホスホロアミダイトの合成研究
藤末大貴、日本薬学会 132 年会、北海道、2012 年 3 月 28-31 日.

22. S-アルキル-N-アルキルイソチオウレア構造を持つ非イミダゾール系ヒスタミン H₃ アンタゴニストの創薬研究
曲田拓司、日本薬学会 132 年会、北海道、2012 年 3 月 28-31 日.

23. Synthesis and Evaluation of Potent Non-imidazole Histamine H₃ Antagonists Based on S-Alkyl-N-alkylisothiourea Structure.
Hiroki Yoneyama, AIMECS 11, Tokyo, (29 Nov.-2 Dec.), 2011.

24. S-アルキル-N-アルキルイソチオウレア構造を持つ非イミダゾール系ヒスタミン H₃ 受容体アンタゴニストの創製研究
曲田拓司, 第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会、神戸学院大学、2011 年 10 月 22 日.

25. リボザイムの触媒機構解明のためのイミダゾール C₁- and C₃-リボヌクレオシドホスホロアミダイト合成
西村昌慶, 第 61 回日本薬学会近畿支部総会・大会、神戸学院大学、2011 年 10 月 22 日.

26. β -イミダゾール C-ヌクレオシドからヒスタミン H3 受容体リガンドを作る。

春沢信哉, CPhI Japan 2011 Osaka, 2011 年 7 月 13 日、インテックス大阪.

27. 乳癌増殖抑制を目的としたエストラジオール-イミダゾール C-ヌクレオシド組合せ化合物の合成研究

山下悠作, 第 60 回日本薬学会近畿支部総会・大会、近畿大学、2010 年 10 月 30 日.

28. 組み換えヒト 17 β -hydroxysteroid dehydrogenase type 1 (17 β -HSD1) の作成とこれを利用した新規乳癌治療薬の活性評価
芳村利信、日本薬学会 130 年会、岡山、2010 年 3 月 28-30 日.

29. リボースと C4-イミダゾール間に C1 スペーサーを持つホスホロアミダイトの合成研究
藤井健介、日本薬学会 130 年会、岡山、2010 年 3 月 28-30 日.

30. リボースと C4-イミダゾール環に C1 及び C3 スペーサーを持つホスホロアミダイトの合成研究
藤井健介、第 59 回日本薬学会近畿支部総会・大会、近畿大学、2009 年 10 月 24 日.

31. 2'-O-シアノエチル基を用いたイミダゾール C-ヌクレオシドホスホロアミダイトの合成
荒木理佐、日本薬学会 129 年会、京都、2009 年 3 月 26-28 日.

〔図書〕(計 1 件)

春沢信哉 他、有機医薬品合成化学 ターゲット分子の合成、廣川書店、p333 (p145 ~ 172) (2011).

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称 :

発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
出願年月日 :
国内外の別 :

取得状況 (計 0 件)

名称 :
発明者 :
権利者 :
種類 :
番号 :
取得年月日 :
国内外の別 :

〔その他〕
ホームページ:
<http://www.oups.ac.jp/kenkyu/kenkyuushitu/yukiyakukagaku.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

春沢 信哉 (Shinya Harusawa)
大阪薬科大学・薬学部・教授
研究者番号 : 90167601

(2) 連携研究者

高岡昌徳 (Masanori Takaoka)
大阪薬科大学・薬学部・教授
研究者番号 : 50140231