

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 22 日現在

機関番号：17401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24659048

研究課題名(和文) 脳移行ペプチドを用いた脳腫瘍薬、脳保護薬の設計と合成

研究課題名(英文) Design and synthesis of anti-brain tumor and brain-protective drugs using brain-targeting peptides

研究代表者

大塚 雅巳 (Otsuka, Masami)

熊本大学・生命科学研究部・教授

研究者番号：40126008

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円、(間接経費) 870,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は抗腫瘍活性分子や細胞保護分子を新規に開発し、これに脳移行デバイスを連結することを目的とした。ジメチルアミノピリジンとヒスチジンからなる抗腫瘍性化合物に置換基を導入し抗腫瘍活性の最適化を行った。これにジヒドロピリジンカルボン酸脳移行デバイスを連結した化合物を合成した。また脳保護化合物としてイノシトールリン脂質のアナログ化合物のジアシルグリセロール部分をドデシル基で置き換えた化合物を合成した。

研究成果の概要(英文)：The present study aimed at the development of novel antitumor and cytoprotective molecules and the subsequent connection of brain-targeting devices. The activity of antitumor compound comprising dimethylaminopyridine and histidines was optimized by introducing appropriate substituents. A brain-targeting device was introduced to this molecule. On the other hand, an inositol phospholipid derivative having a dodecyl group in place of the diacyl glycerol group was synthesized as a brain-protective compound.

研究分野：医歯薬学

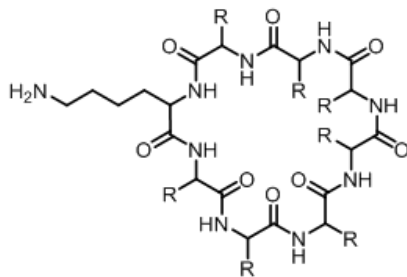
科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：脳腫瘍薬 脳保護薬

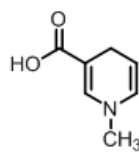
1. 研究開始当初の背景

抗がん医薬の開発が世界的に行われているなかで脳腫瘍薬の種類は少ない。21世紀初頭になっても、わが国で脳腫瘍の適用を承認された抗癌剤はピンクリスチン、プレオマイシン、プロカルバジン、ニムスチン、シスプラチン、インターフェロンベータ、エトポシド、ラニムスチンの古典薬 8 種類のみで、2006年7月に19年ぶりにアルキル化剤テモゾロミドが9番めの脳腫瘍薬として承認されたばかりである。また、これまで脳保護薬の適用を承認されているのはエダラボンの1種のみである。これは多くの医薬品が血液脳関門にはばまれて脳に移行しないためである。

抗腫瘍活性分子や細胞保護分子を脳に移行させることができれば脳腫瘍薬や脳保護薬となりうると考えられる。薬物を脳に移行させるための脳移行デバイスとして、脳移行ペプチド (BT ペプチド) およびジヒドロピリジンカルボン酸が知られている。BT ペプチドは薬物を脳内に移行させた後、生体内酵素で加水分解されて親薬物を放出し、また、ジヒドロピリジンカルボン酸は薬物を脳内に送達したまま Lock-in することが知られており、本研究に有用と考えられた。

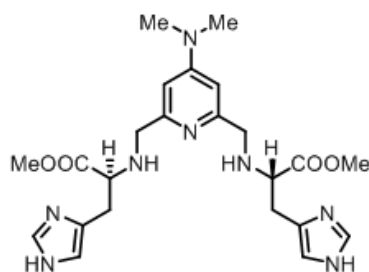


脳移行ペプチド (BT ペプチド)



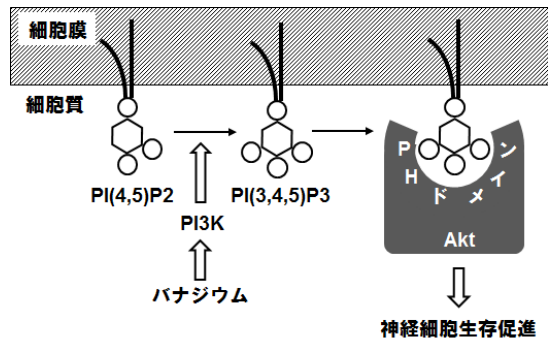
ジヒドロピリジンカルボン酸

脳に送達する抗腫瘍活性分子として、研究代表者らはさきにヒスチジンとピリジンからなる対称的構造をもつ分子を開発した。

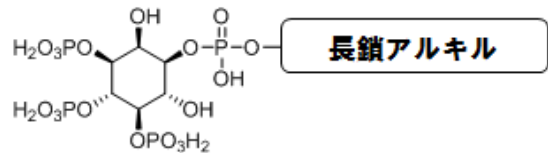


HPH 化合物

また、バナジウム化合物はタンパク質 Akt を活性化して脳保護作用を示すことが知られていることから、研究代表者らは Akt を標的とする脳保護薬を創製することを考えた。バナジウム化合物は PI3K を活性化して細胞膜のイノシトールリン脂質 PI(4,5)P2 をリン酸化して PI(3,4,5)P3 に変換する。Akt はイノシトールリン酸に結合する PH ドメインをもち、PI(3,4,5)P3 に結合すると活性化され神経細胞の生存を促進する。



研究代表者らはイノシトールリン酸に長鎖アルキル基を連結するという分子設計にもとづき、PI(3,4,5)P3 のアナログ化合物を合成し脳神経保護薬を得ることを考え、研究を行ってきた。

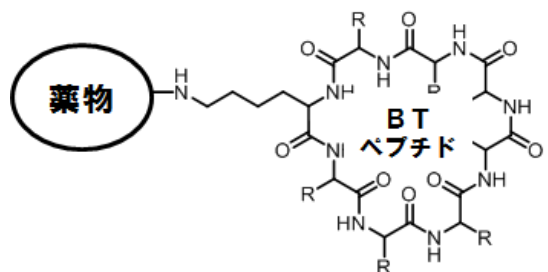


PI(3,4,5)P3 アナログ化合物

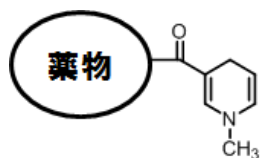
以上が、本研究開始当初の状況である。

2. 研究の目的

本研究では、研究代表者がこれまでに設計、合成した抗腫瘍性化合物や神経保護化合物に BT ペプチドやジヒドロピリジンカルボン酸などの脳移行デバイスを連結し、新規脳腫瘍薬、脳保護薬を得ることを目的とした。

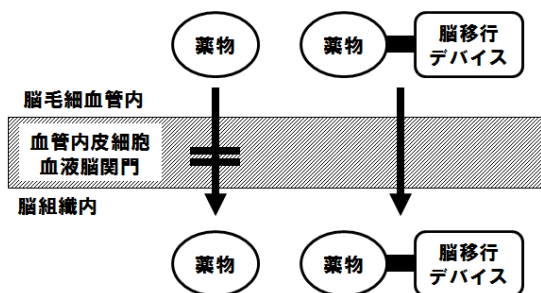


BT ペプチド-薬物



ジヒドロピリジンカルボン酸-薬物

これらの化合物は血液脳関門を通過して脳内に到達し、作用を現すと期待される。



### 3. 研究の方法

#### (1) 新規の抗腫瘍化合物

研究代表者らはさきに、癌細胞にアポトーシスを誘起する化合物、癌遺伝子 Ras を発現している細胞に有効な化合物を開発した。これらの化合物の構造を改変し、抗がん活性の改善をはかる。得られた化合物のそれぞれにリンカーを連結し、リンカー部位を介して脳移行デバイスを結合させる。

#### (2) 新規の細胞保護化合物

研究代表者らは Akt に結合し膜移行させる化合物として、ホスファチジルイノシトール-3,4,5,6-四リン酸のジアシルグリセロール部分をファルネシル基で置き換えた化合物を合成する。さらに、この化合物に脳移行デバイスを結合させるためのリンカーを導入し、脳移行デバイスを結合させる。

### 4. 研究成果

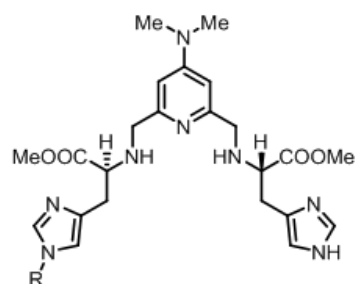
#### (1) 新規の抗腫瘍化合物

研究代表者らがこれまでに開発してきたジメチルアミノピリジンとヒスチジンからなる抗腫瘍性化合物 HPH のヒスチジン部分のイミダゾールに置換基 R を導入した化合物 HPH-R および HPH-2R を新規に合成した。これらの化合物はアポトーシス耐性膵がん細胞 AsPC1 に対して抗腫瘍活性を示した。置換基 R が同じ場合、HPH-2R の方が HPH-R より活性が強く、また置換基 R が嵩高くなるほど活性が強くなることを見出した。

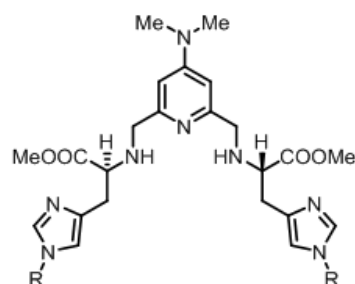
HPH-2R にジヒドロピリジンカルボン酸脳移行デバイスを連結した化合物を合成した。

今後は、熊本大学医学部附属病院の脳神

経外科において脳腫瘍患者から摘出した腫瘍から樹立した細胞を用いた検討を行う。



HPH-R



HPH-2R

#### (2) 新規の細胞保護化合物

イノシトールリン脂質 PI(4,5)P2 が PI3K によりリン酸化された PI(3,4,5)P3 のアナログ化合物として、ジアシルグリセロール部分をドデシル基で置き換えた化合物を合成した。またファルネシル基をもつ化合物も合成中である。

今後はこれらの化合物の Akt 活性化、脳保護作用を検討する。

### 5. 主な発表論文等

#### 〔雑誌論文〕(計7件)

Hiroshi Tateishi, Kensaku Anraku, Ryoko Koga, Yoshinari Okamoto, Mikako Fujita, Masami Otsuka, Design and synthesis of lipid-coupled inositol 1,2,3,4,5,6-hexakisphosphate derivatives exhibiting high-affinity binding for HIV-1 MA domain. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 査読有, First published online: 14 May 2014. DOI: 10.1039/C4OB00350K

Ariko Miyake, Mikako Fujita, Haruna Fujino, Ryoko Koga, Sogo Kawamura, Masami Otsuka, Hirotaka Ode, Yasumasa Iwatani, Yosuke Sakai, Naoya Doi, Masako Nomaguchi, Akio Adachi, Yasuyuki Miyazaki, Poly-proline motif in HIV-2 Vpx is critical for its efficient translation. *Journal of General Virology*, 査読有, 95: 179-189, 2014. DOI:10.1099/vir.0.057364-0

Tadashi Ashizawa, Haruo Miyata, Akira Iizuka, Masaru Komiyama, Chie Oshita, Akiko Kume, Masahiro Nogami, Mika

Yagoto, Ichiro Ito, Takuma Oishi, Reiko Watanabe, Koichi Mitsuya, Kenji Matsuno, Toshio Furuya, Tadashi Okawara, Masami Otsuka, Naohisa Ogo, Akira Asai, Yoko Nakasu, Ken Yamaguchi Yasuto Akiyama, Effect of the STAT3 inhibitor STX-0119 on the proliferation of cancer stem-like cells derived from recurrent glioblastoma. International Journal of Oncology, 査読有, 219-227, 2013. DOI: 10.3892/ijo.2013.1916

Mikako Fujita, Masako Nomaguchi, Akio Adachi, Masami Otsuka, SAMHD1-dependent and-independent functions of HIV-2/SIV Vpx protein. Frontiers in Microbiology, 査読有, August 2012, Vol 3, Article 297, 1-7, 2012. DOI: 10.3389/fmicb.2012.00297

Shintaro Suemasu, Naoki Yamakawa, Tomoaki Ishihara, Teita Asano, Kayoko Tahara, Ken-ichiro Tanaka, Hirofumi Matsui, Yoshinari Okamoto, Masami Otsuka, Koji Takeuchi, Hidekatsu Suzuki, Tohru Mizushima, Identification of a unique nsaid, fluoro-loxoprofen with gastroprotective activity. Biochemical Pharmacology, 査読有, 84 (11), 1470-1481, 2012. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bcp.2012.09.016>

Naoki Yamakawa, Shintaro Suemasu, Yoshinari Okamoto, Ken-ichiro Tanaka, Tomoaki Ishihara, Teita Asano, Keishi Miyata, Masami Otsuka, Tohru Mizushima, Synthesis and biological evaluation of derivatives of 2-{2-fluoro-4-[(2-oxocyclopentyl)methyl]phenyl}propanoic acid: Non-steroidal Anti-inflammatory Drugs with Low Gastric Ulcerogenic Activity. Journal of Medicinal Chemistry, 査読有, 55(11), 5143-5150, 2012. DOI: 10.1021/jm300049g

Takashi Masuda, Kensaku Anraku, Mitsuhiro Kimura, Kaori Sato, Yoshinari Okamoto, Masami Otsuka, A Versatile Intermediate for the Systematic Synthesis of All Regioisomers of *myo*-Inositol Phosphates. Synthesis, 査読有, 44 (6), 909-919, 2012. DOI: 10.1055/s-0031-1289730

[学会発表](計 16 件)

井田智弓、岡本良成、藤田美歌子、黒崎博雅、大塚雅巳 ペプチド性新規 DNA 切断分子の設計と合成 第 30 回日本薬学会九州支部大会 (長崎国際大学) 2013.12.8.

加茂真宏、岡本良成、大塚雅巳、藤田美歌子 ウイルスコアの脱殻過程における作用を目指した新規抗 HIV 薬の創製 第 30 回日本薬学会九州支部大会 (長崎国際大学) 2013.12.7.

古賀涼子、江島智彦、金丸陽亮、田口祐、柴田佑里、井上純一郎、大塚雅巳、藤田美歌子 NF- B 活性化シグナル伝達分子に対する亜鉛フィンガー蛋白質阻害剤の作用 第 30 回日本薬学会九州支部大会 (長崎国際大学) 2013.12.7.

加茂真宏、岡本良成、大塚雅巳、藤田美歌子 ウイルスコアの脱殻過程における作用を目指した新規抗 HIV 薬の創製 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム (広島アステールプラザ) 2013.11.21.

古賀涼子、江島智彦、金丸陽亮、田口祐、柴田佑里、井上純一郎、大塚雅巳、藤田美歌子 NF- B 活性化シグナル伝達分子に対する亜鉛フィンガー蛋白質阻害剤の作用 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム (広島アステールプラザ) 2013.11.21.

立石大、安楽健作、古賀涼子、岡本良成、藤田美歌子、大塚雅巳 HIV-1 放出抑制剤を目指したイノシトールリン脂質誘導体の合成と評価 第 31 回メディシナルケミストリーシンポジウム (広島アステールプラザ) 2013.11.20.

Masami Otsuka Inositol phosphates in calcium signaling and HIV replication DPhG (Deutsche Pharmazeutische Gesellschaft) Annual Meeting 2013 (University of Freiburg) 2013.10.11.

安楽健作、立石大、古賀涼子、東大志、本山敬一、有馬英俊、大塚雅巳、藤田美歌子 HIV-1 MA 蛋白質と強く結合するイノシトールリン脂質誘導体の合成と評価 日本薬学会第 133 年会 (横浜) 2013.03.29.

田中亜友美、岸田明日美、小畑恵美子、岡本良成、梅澤一夫、大塚雅巳 ファルネシルトランスフェラーゼの特異的阻害剤を目的とした亜鉛キレーターの設計及び合成 日本薬学会第 133 年会 (横浜) 2013.03.28.

立石大、安楽健作、古賀涼子、藤田美歌子、大塚雅巳 HIV-1 放出抑制剤を目指したイノシトールリン脂質誘導体 日本薬学会第 133 年会 (横浜) 2013.03.28.

田中亜友美、岸田明日美、小畑恵美子、岡本良成、梅澤一夫、大塚雅巳 ファルネシルトランスフェラーゼの特異的阻害剤を目的とした亜鉛キレーターの設計および合成 第 29 回日本薬学会九州支部大会 (熊本大学薬学部) 2012.12.8/9.

川田代康介、岡本良成、佐谷秀行、大塚雅巳 人工亜鉛キレーターを持つ ADAM ファミリーメタロプロテアーゼ阻害剤の合成 第 29 回日本薬学会九州支部大会 (熊本大学薬学部) 2012.12.8/9.

園田祥子、安楽健作、古賀涼子、田口祐、井上純一郎、岡本良成、藤田美歌子、大塚雅巳 亜鉛フィンガー蛋白質阻害剤

SN-1 の作用機序解明を目指した研究  
第 29 回日本薬学会九州支部大会 (熊本  
大学薬学部) 2012.12.8/9.

筑葉晃一、工藤康太、舛田岳史、安楽健  
作、大塚雅巳 PH ドメインタンパク質  
に結合し膜に移動させる *myo*-イノシト  
ール誘導体の合成 第 29 回日本薬学会  
九州支部大会 (熊本大学薬学部)  
2012.12.8/9.

立石大、安楽健作、大塚雅巳、藤田美歌  
子 HIV-1 放出抑制剤を目指したイノシ  
トールリン脂質誘導体 第 26 回日本エ  
イズ学会学術集会 (慶應義塾大学日吉キ  
ャンパス) 2012.11.24.

安楽健作、舛田岳史、立石大、岡本良成、  
藤田美歌子、大塚雅巳 イノシトールリ  
ン酸を基盤とした生物機能性分子の設  
計と合成 第 38 回反応と合成の進歩シ  
ンポジウム (タワーホール船堀)  
2012.11.5/6.

〔図書〕(計 1 件)

Kensaku Anraku, Mikako Fujita, Takashi  
Morii, Yasuo Mori, Yoshinari Okamoto,  
Masami Otsuka, Design and Synthesis of  
Biotinylated Inositol Phosphates:  
Application to the Inositol  
Phosphate-Protein Binding Analysis.  
“Inositol” Ed. By Rochha H, Cardoso M,  
Nova Science Publishers, Inc., 2013,  
pp193-213.

〔その他〕

ホームページ等

[http://www.pharm.kumamoto-u.ac.jp/Labs/bunsi  
gouseiHP/index.html](http://www.pharm.kumamoto-u.ac.jp/Labs/bunsi<br/>gouseiHP/index.html)

6 . 研究組織

(1)研究代表者

大塚 雅巳 (OTSUKA MASAMI)  
熊本大学・大学院生命科学研究部・教授  
研究者番号：40126008