

## 自己評価報告書

平成 23 年 5 月 16 日現在

機関番号：32659

研究種目：基盤研究 (B)

研究期間：平成 20~23 年

課題番号：20390036

研究課題名 (和文) 微小管を標的とした抗がん剤の創薬・ケミカルバイオロジー・化学薬剤学展開  
研究課題名 (英文) Study on Medicinal Chemistry, Chemical Biology and Chemical  
Pharmaceutics of Anticancer Drug Based on the Microtubule Targeting Agents

研究代表者

林 良雄 (HAYASHI YOSHIO)

東京薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：10322562

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：医薬品開発, 抗がん剤, 有機合成化学, チューブリン作用薬, プロドラッグ, ケミカルバイオロジー, 化学薬剤学, 化学プローブ

## 1. 研究計画の概要

本研究は、微小管作用に基づく腫瘍選択的  
新生血管内皮細胞障害剤の創薬研究を中核と  
し、分子機能を探るケミカルバイオロジー研究、  
さらに微小管作用薬の薬剤学的高度機能化研究  
を統合的に実施するもので、抗がん剤として  
重要な微小管作用薬の新しい潮流を総合的に  
開拓するものである。特に微小管脱重合作用を  
基盤に、新生血管内皮細胞障害剤 (Vascular  
Disrupting Agent, VDA) の創薬研究である。

本申請者は天然物微小管脱重合物質フェニ  
ラヒスチン (PLH) を戦略分子とする創薬研究か  
ら強力な VDA (Plinabulin) の創製に既に成功し  
ている。当該物質は前臨床試験を経て、現在世  
界4カ国で第 II 相臨床試験が実施中であるが、  
本研究では Plinabulin を基に第二世代の VDA  
型抗がん剤開発、水溶性プロドラッグ、腫瘍  
高選択性光応答型プロドラッグの創製研究、  
更にケミカルバイオロジーに応用可能な光  
標識プローブの開発を通じ、血管内皮細胞障  
害作用のメカニズム解明をめざす研究である。  
また、薬剤耐性発現など複数の薬剤学的  
課題を解決可能な化学薬剤学の展開を図るも  
のである。高活性誘導体創製、水溶性プロド  
ラッグへの変換や耐性を克服し経口投与を  
可能にする薬剤への分子進化は、有機合成化  
学を先導的に利用して展開する。すなわち、  
本申請の研究課題では、これらを統合的に研  
究・融合させることで、がん化学療法で重要  
な微小管作用薬の新しい潮流を構築する。

## 2. 研究の進捗状況

## (1) 第二世代の VDA 型抗がん剤開発

第二世代誘導体開発のため Plinabulin を基  
盤に合成研究を実施した。フェニル基をベンゾ  
フェノン構造に変換した誘導体 (KPU224) が  
高活性であることを見いだし、更に同環上への  
置換導入による誘導を実施したところ、ベンゾ  
フェノン4'位にブロモ原子を有する新規誘導体  
KPU134 が Plinabulin を凌ぐ強力なチューブリン

結合能および殺細胞活性を有することを見いだ  
した。更に F 原子を 4'位または 3'位に導入した  
新規誘導体 KPU133, 146 が Plinabulin より 30  
倍強力な活性 ( $IC_{50} = 0.5 \text{ nM}$ ) を有すること  
を見いだした。これらの超高活性誘導体は、第  
二世世代 Plinabulin としての開発が期待される。

## (2) Plinabulin のケミカルバイオロジー

Plinabulin の分子機構解析のため、ケミカル  
バイオロジーによる解析を実施。蛋白質を光  
親和性標識するベンゾフェノン構造を持つ高  
活性誘導体を基に、ビオチンタグ含有プロ  
ープとして、ベンゾフェノン部にタグを付加し  
た複数の化学プローブ、およびクリック反応  
でイミダゾール環を標識した化学プローブを  
設計・化学合成し、生物活性を確認後、標識  
研究を実施した。その結果、プローブはチュ  
ーブリンのサブユニット  $\alpha$   $\beta$  を相互に標識  
することが解った。これを基にモデリングに  
よる検討を行い、Plinabulin 認識部位は、チュ  
ーブリン両サブユニットの境界面でコルヒ  
チン結合部位近傍と考察した。Mass による詳  
細な解析は実施中である。

## (3) 水溶性プロドラッグの開発

Plinabulin は注射剤にもかかわらず高度に難  
水溶性である。そこで、水溶性プロドラッグの検  
討を行なった。非常にコンパクトな分子のため、  
水溶性官能基の導入に難儀したが、合成研究  
の結果、カルボニル酸素上にリンカー構造の導  
入が可能なることを発見し、9 mg/mL の高い水溶  
性を有するプロドラッグ創製に成功。この化合物  
は、in vitro でエステラーゼ存在下に Plinabulin  
を再生することを確認。ジケトピペラジン-モノラ  
クチム変換とクリックケミストリーによる水溶性プロ  
ドラッグのデザイン・合成を達成。今後、高次評  
価に付す創薬分子の創製に至った。

## 3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している

(理由)

微小管作用に基づく腫瘍選択的的新生血管内

皮細胞障害剤の創薬研究において、3つの方向性で研究を進め、予定を上回る成果を達成した。高活性誘導体開発では、臨床治験化合物の30倍の活性を持つ誘導体の開発、水溶性プロドラッグでは、ジケトピペラジンからモノラクチム環への骨格変換を伴うプロドラッグ創製に成功、有機化学的にも意義深い、Plinabulinの9万倍の水溶性増強に繋がった。更に、機構研究では、コルヒチンとは異なった様式でチューブリンを認識するモデルの提唱に至った。パクリタキセルのプロドラッグについても光により親化合物への変換に成功。患者満足度が低い抗がん剤の化学療法に大きく貢献できる研究成果である。

#### 4. 今後の研究の推進方策

本研究課題は23年度までの申請であったが、上記の如く研究の進捗を鑑み、最終年度前年度応募課題として、基盤研究(B)に採択された。新規基盤研究において現課題を発展的に展開する。第二世代VDAでは、薬理高次評価を予定。候補の有用性を検討しつつ、強力な誘導体創製をめざした構造活性相関研究を進める。一方、Plinabulin水溶性プロドラッグは実用性評価と共に、体内酸化酵素によるチオール-スルフォキシド変換に基づくプロドラッグも検討する。類似プロドラッグ戦略を用いたがん組織選択的DDSの創製もめざす。また我々の創製したVDAは、放射線療法との相乗効果が期待されており、放射線治療後の転移・再発を抑制する新規薬剤として、医学部との共同研究に挑戦する。

#### 5. 代表的な研究成果

(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14件)

- ① Yamazaki, Y., Kido, Y., Hidaka, K., Yasui, H., Kiso, Y., Yakushiji, F., Hayashi, Y. Tubulin photoaffinity labeling study with a plinabulin chemical probe possessing a bitin tag at the oxazole. *Bioorg. Med. Chem.*, (査読有) 19, 595-602 (2011).
- ② Yamazaki, Y., Sumikura, M., Hidaka, K., Yasui, H., Kiso, Y., Yakushiji, F., Hayashi, Y. Anti-microtubule “plinabulin” chemical probe KPU-244-B3 labeled both  $\alpha$ - and  $\beta$ -tubulin. *Bioorg. Med. Chem.*, (査読有) 18, 3169-3174 (2010).
- ③ Yamazaki, Y., Mori, Y., Oda, A., Okuno, Y., Kiso, Y., Hayashi, Y. Acid catalyzed mono-dehydro-2,5-diketopiperazine formation from N- $\alpha$ -ketoacyl amino acid amides. *Tetrahedron*, (査読有) 65, 3688-3694 (2009).
- ④ Takayama, K., Suehisa, Y., Fujita, T., Nguyen, J-T., Futaki, S., Yamamoto, A., Kiso, Y., Hayashi, Y. Oligoarginine-based prodrugs with self-cleavable spacers for Caco-2 cell permeation. *Chem. Pharm. Bull.*, (査読有) 56, 1515-1520 (2008).
- ⑤ Yamazaki, Y., Kohno, K., Yasui, H., Kiso, Y., Akamatsu, M., Nicholson, B., Deyanat-Yazdi, G., Neuteboom, S., Potts, B., Lloyd, G. K., Hayashi, Y. Tubulin Photoaffinity Labeling by Biotin-Tagged Derivatives of

Potent Diketopiperazine Anti-Microtubule Agents. *ChemBioChem*, (査読有) 9, 3074-3081 (2008).

[学会発表] (計38件)

- ① Yuri Yamazaki, Development of chemical probes towards the elucidation of binding mechanism of plinabulin, a cyclic dipeptide based anti-microtubule agent, 5th International Peptide Symposium in conjunction with 47th Japanese Peptide Symposium, 2010年12月4日, Kyoto (口頭発表).
- ② Yoshio Hayashi, Plinabulin a diketopiperazine-type vascular targeting anti-cancer agent based on microtubule depolymerization activity, ACS Spring 2010 National Meeting & Exposition, 2010年3月22日, San Francisco, USA (招待後援).
- ③ Yoshio Hayashi, Plinabulin a cyclic dipeptide-based vascular targeting anti-cancer agent based on microtubule depolymerization activity, 3rd Asia-Pacific International Peptide Symposium / 13th Korean Peptide and Protein Symposium: “Peptides at Cutting Edge”, 2009年11月9日, Jeju Island, Korea (口頭発表).
- ④ Y. Hayashi, Cyclic dipeptide-based microtubule depolymerization agents as vascular targeting anti-cancer drugs, 7th AFMC International Medicinal Chemistry Congress, 2009年8月27日, Cairns, Australia (口頭発表).
- ⑤ Yoshio Hayashi, A new microtubule targeting agent as a vascular targeting anti-cancer drug, 12th Akabori Conference: German-Japanese Symposium on Peptide Science, 2008年5月16日, Kyoto (口頭発表).

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: Analogs of dehydrophenylahistins and their therapeutic use and preparation.  
発明者: Michael A. Palladino, G. Kenneth Lloyd, Yoshio Hayashi  
権利者: Nereus Pharmaceuticals  
種類: 特許権  
番号: US20080221122  
出願年月日: 20080911  
国内外の別: 米国

○取得状況 (計2件)

名称: Synthesis Of Diketopiperazines  
発明者: Yoshio Hayashi,  
権利者: Nereus Pharmaceuticals  
種類: 特許権  
番号: US7732605  
取得年月日: 2010年6月8日  
国内外の別: 国外  
名称: Dehydrophenylahistins And Analogs Thereof And The Synthesis Of Dehydrophenylahistins And Analogs Thereof  
発明者: Yoshio Hayashi, Michael A Palladino Jr, Jennifer Grodberg  
権利者: Nereus Pharmaceuticals  
種類: 特許権  
番号: US7674903  
取得年月日: 2010年3月9日  
国内外の別: 国外