

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：17401

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590131

研究課題名(和文) ADAM17および転写因子snailを標的としたがん浸潤阻害剤の開発

研究課題名(英文) Development of inhibitors of cancer cell invasion targetting to ADAM17 or transcription factor Snail.

研究代表者

岡本 良成 (OKAMOTO, Yoshinari)

熊本大学・大学院生命科学研究部(薬)・助教

研究者番号：20194409

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：近年、腫瘍細胞の浸潤・転移には、機能発現に亜鉛が必須である転写因子Snailや、プロテアーゼADAM10およびADAM17が関与していることが見いだされてきた。

本研究では、亜鉛特異的な配位子に蛋白認識部位を連結させるという方法論で、これらの蛋白質を特異的に阻害する化合物を合成することを目的とした。我々が開発したピリジンと2つのシステアミンからなる亜鉛特異的な配位子に、ADAM認識部位として2-フェニルキノリン骨格、または、ブチニル基を持つ化合物を合成することができた。現在、tertブチル基の脱保護について検討中である。

研究成果の概要(英文)：Recently, it has been reported that transcription factor Snail, protease ADAM10 and ADAM17 are participating in invasion and metastasis of cancer cell. The present study aimed at development of specific inhibitors of these proteins.

We are successful to synthesis a new pyridine/cysteamine based zinc chelator equipped with 2-phenylquinoline or butynyl group for recognition of these proteins. Deprotection step of tert-butyl group is ongoing now.

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：癌 浸潤・転移 亜鉛キレーター ADAM17

1. 研究開始当初の背景

癌による死亡の約90%は、腫瘍細胞の局所浸潤(周辺組織への浸潤)と遠隔転移によるものであると考えられている。近年、腫瘍細胞の浸潤・転移に、上皮間葉転移(EMT)に関連する転写因子Snailと、細胞の移動に関連してメタロプロテアーゼADAM10、およびADAM17が関与していることが見いだされた。

Snailは、C末端側に4個の亜鉛フィンガードメインを持つ亜鉛フィンガー型転写因子で、E-カドヘリンの発現を抑制する。最近の研究により、Snailの核内移行には亜鉛フィンガーが重要であることが報告された(*Gene to Cell*, 10, 455, 2005; *Nature*, 429, 298, 2004)。すなわち、Snailの亜鉛フィンガー部分に作用する化合物を合成することで、Snailの核内移行を阻害し、EMTを抑制することが可能ではないかと考えた。

また、ADAM10やADAM17などのプロテアーゼは、活性中心に亜鉛を持っており、亜鉛に作用する化合物は、プロテアーゼの活性を阻害することができると考えられる。MMPは、1990年代から癌治療の分子標的として認識され、その阻害剤(MMPI)の開発は活発な研究が行われているものの、その成功に行き着いたものはなかった。

研究代表者らは、ピリジンと2つのシステアミンからなる化合物が、亜鉛配位子として働き、亜鉛フィンガー蛋白質であるHIV-EP1に対して良い阻害効果を示すことを見いだした。さらに、この配位子のピリジン環の4位に芳香環を連結した化合物は、活性中心に亜鉛が存在し、その近傍に疎水性ポケットを持つファルネシルトランスフェラーゼの活性を阻害する事を見いだした。また、システアミン側鎖部位に広くMMPを阻害することが知られているマリマスタットの部分構造を導入した化合物は、細胞毒性を示さない濃度でがん細胞のフォーカス形成を阻害する事を見いだした。

2. 研究の目的

細胞のEMTに關与する転写因子Snailや細胞の移動に關与するプロテアーゼADAM10、およびADAM17は、その機能を発現するために亜鉛を必要とする亜鉛蛋白質である。

本研究では、我々が開発した亜鉛特異的な配位子に、蛋白質を特異的に認識する側鎖を結合し、これらの蛋白質の機能発現に必須である亜鉛と特異的に相互作用する亜鉛キレーターを設計・合成することを目的とした。合成した化合物は、癌の浸潤・転移を阻

害する事により、がん患者のQOLを改善する新しい抗癌剤の開発につながるものと考えた。

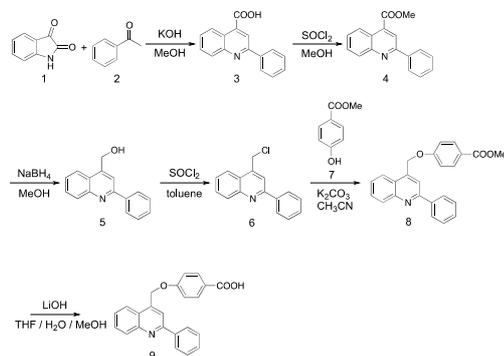
3. 研究の方法

4-ジメチルアミノピリジンを原料として、2位へのホルミル基の導入、アセタール保護、6位へのホルミル基の導入を順次行うことで得られる化合物に、キレート性側鎖であるシステアミンを還元的アミノ化により連結する。得られた化合物に対して、ADAM17に特異的に結合することが知られている化合物の金属配位部を除いた部分構造をADAM17認識部位として導入する。その後アセタールの脱保護を行い、生じたアルデヒドに対して、さらに一分子のシステアミンを還元的アミノ化により連結する。必要であれば保護基の脱保護を行い、目的の化合物を合成する。この際、末端にできるチオール不安定さを考慮し、末端部分はNps基で保護するか、分子内あるいは分子間でジスルフィド結合を形成し、目的化合物の単量体(分子内ジスルフィド)または多量体(分子間ジスルフィド)として合成することとした。

4. 研究成果

(1) 2-フェニルキノリン骨格を持つ側鎖の合成

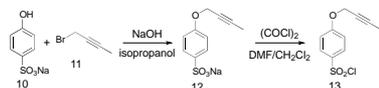
イサチン(1)を出発原料としてアセトフェノン(2)とのPfitzinger反応を行い2-フェニルキノリン-4-カルボン酸(3)を合成した。メチルエステル化後、NaBH₄で還元しアルコール体(5)とした。チオニルクロライドを用いて水酸基をクロル化し、4-ヒドロキシ安息香酸メチル(7)と反応させ化合物(8)を得た。最後に水酸化リチウムでエステルを加水分解し(9)を得た。



(2) ブチニル基を持つ側鎖の合成

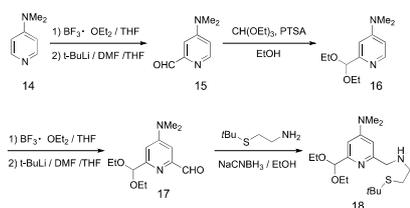
4-ヒドロキシベンゼンスルホン酸ナトリウム(10)を出発原料として1-プロモ-2-ブチン(11)との反応でブチニル基を導入した化合物(12)を得た。その後、オキサリルクロライドを用いてクロル化しスルホニルクロ

リド(13)を得た。

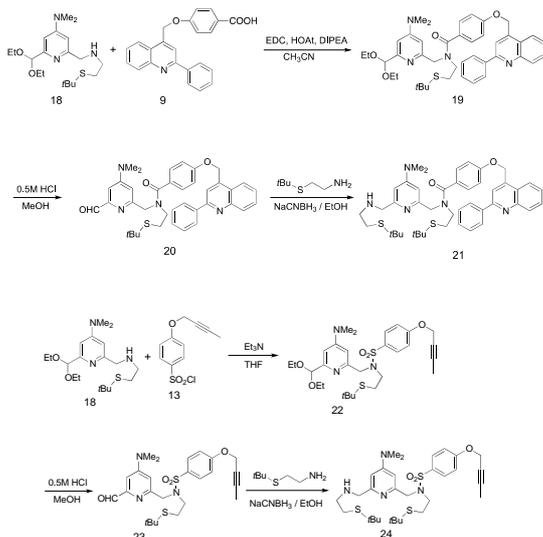


(3) ピリジン部位の合成とシステアミン側鎖および ADAM 認識部の導入

4-ジメチルアミノピリジン(14)を出発原料とし 2 位のホルミル化, アセタール保護, 6 位のホルミル化を経て化合物(17)を得た。その後, 2-tert ブチルチオエチルアミンを還元的アミノ化反応を用いて導入し, 化合物(18)を得た。



化合物(18)と先に合成した化合物(9)または化合物(13)を反応させることで, 側鎖部に ADAM 認識部位を導入した化合物(19), (22)を得た。引き続きアセタールの脱保護, さらに還元的アミノ化による 2-tert ブチルチオエチルアミノ基の導入を経て, 2-フェニルキノリン骨格を持つ化合物(21), またはブチニル基を持つ化合物(24)を得ることができた。現在, 両化合物とも tert ブチル基の脱保護を検討中である。



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6件)

Facile Synthesis of 2-Phenylquinoline
-4-carboxamide Derivatives with

Variant Structural Features. [Heterocycles, 89 (3), (2014), 693-708] Rafiqul Islam, Md. Imran Hossain, Yoshinari Okamoto, Tomohisa Nagamatsu, Kensaku Anraku, and Tadashi Okawara, 査読有

Identification of a unique nsaid, fluoro-loxoprofen with gastroprotective activity. [Biochemical Pharmacology, 84 (11), (2012), 1470-1481] Shintaro Suemasu, Naoki Yamakawa, Tomoaki Ishihara, Teita Asano, Kayoko Tahara, Ken-ichiro Tanaka, Hirofumi Matsui, Yoshinari Okamoto, Masami Otsuka, Koji Takeuchi, Hidekazu Suzuki, Tohru Mizushima, 査読有

A versatile intermediate for the systematic synthesis of all regioisomers of myo-inositol phosphates. [Synthesis, 44 (6), (2012), 909-919] Masuda Takashi, Anraku Kensaku, Kimura Mitsuhiro, Sato Kaori, Okamoto Yoshinari, Otsuka Masami, 査読有

An artificial copper complex incorporating a cell-penetrating peptide inhibits NF- κ B activation. [Chemical & Pharmaceutical Bulletin, 59 (12), (2011), 1555-1558] Kanemaru Y, Momiki Y, Matsuura S, Horikawa T, Gohda J, Inoue J, Okamoto Y, Fujita M, and Otsuka M. 査読有

Design and synthesis of biotinylated inositol 1,3,4,5-tetrakisphosphate targeting Grp1 pleckstrin homology domain. [Bioorganic & Medicinal Chemistry, 19, (2011), 6833-6841] Anraku K, Inoue T, Sugimoto K, Kudo K, Okamoto Y, Morii T, Mori Y, and Otsuka M. 査読有

Synthesis and biological evaluation of loxoprofen derivatives. [Bioorganic & Medicinal Chemistry, 19 (11), (2011), 3299-3311] Yamakawa N, Suemasu S, Matoyama M, Tanaka K, Katsu T, Miyata K, Okamoto Y, Otsuka M, and Mizushima T. 査読有

[学会発表](計15件)

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 Gag のイノシトールリン脂質結合部位を標的とした膜移行阻害剤の合成 [日本薬学会第134年会] (2014年03月27日 - 2014年03月30日, 熊本大学)

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促進を目指した新規抗 HIV 薬の創製 [日本薬学会第134年会] (2014年03月27日 - 2014年

03月30日, 熊本大学)
田中亜友美, 岡本良成, 藤田美歌子, 梅澤一夫, 玉野井冬彦, 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 134 年会](2014 年 03 月 27 日 - 2014 年 03 月 30 日, 熊本大学)
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](2013 年 12 月 07 日 - 2013 年 12 月 08 日, 長崎国際大学)
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課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](2013 年 12 月 07 日 - 2013 年 12 月 08 日, 長崎国際大学)
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] (2013 年 11 月 20 日 - 2013 年 11 月 22 日, アステールプラザ(広島))
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課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] (2013 年 11 月 20 日 - 2013 年 11 月 22 日, アステールプラザ(広島))
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](2013 年 03 月 28 日 - 2013 年 03 月 30 日, パシフィコ横浜)
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, 亜鉛フィンガータンパク質阻害剤 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](2012 年 12 月 08 日 - 2012 年 12 月 09 日, 熊本大学)
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](2012 年 12 月 08 日 - 2012 年 12 月 09 日, 熊本大学)
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を目的とした亜鉛キレーターの設計及び合成 [第 29 回日本薬学会九州支部大会](2012 年 12 月 08 日 - 2012 年 12 月 09 日, 熊本大学)
安楽健作, 舩田岳史, 筑葉晃一, 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](2012 年 11 月 05 日 - 2012 年 11 月 06 日, タワーホール船堀(東京都江戸川区))

馬場菜々美, 野田陽平, 藤田雅紀, 岡本良成, 梅澤一夫, 大塚雅巳, NF- κ B 阻害剤としての azaDHMEQ の合成 [日本薬学会第 132 年会](2012 年 03 月 28 日 - 2012 年 03 月 31 日, 北海道大学)

肥田知浩, 金丸陽亮, 岡本良成, 藤田美歌子, 大塚雅巳, 新規チオール化合物の合成と機能解析 [第 28 回日本薬学会九州支部大会](2011 年 12 月 10 日 - 2011 年 12 月 11 日, 福岡大学)

T. Masuda, K. Anraku, K. Sato, Y. Okamoto, M. Otsuka, Systematic Synthesis of all Regioisomer of Inositol Phosphates[AIMECS 2011](2011 年 11 月 29 日 - 2011 年 12 月 02 日, 京王プラザホテル)

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕
出願状況(計 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 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〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岡本 良成 (OKAMOTO, YOSHINARI)

熊本大学・大学院生命科学研究部・助教

研究者番号: 20194409

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

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