

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 25 日現在

機関番号：32621

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590140

研究課題名(和文) 創薬イノベーションの創出を目指した抗がん剤開発とその作用機序解明

研究課題名(英文) Synthesis of anticancer 4-(1-anisoyl-1-hydroxyethyl)quinazolines and the elucidation of their action mechanism

研究代表者

鈴木 由美子 (Suzuki, Yumiko)

上智大学・理工学部・准教授

研究者番号：20295546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：新規キナゾリン誘導体PVHD類を合成し、肺がん細胞に対する増殖阻害活性を試験したところ、既存のPVHD121と比較し、数十倍活性の高い化合物を十数化合物見出した。ラセミ体として最も高活性であったPVHD303の鏡像異性体を分割し、その活性差を比較できた。一方の異性体は他方に比べ約10倍活性が高いことが分かった。臭化物PVHD303Brについても鏡像異性体を分割できた。今後、臭素化物のX線構造解析により、(+)-体および(-)-体の絶対立体配置を決定できる。

研究成果の概要(英文)：A series of anticancer quinazolines were synthesized and a dozen of new compounds were found to be several dozen times more active than the original hit, PVHD121. (+)-PVHD121 is more active than (-)-isomer. Their bromo-isomers PVHD121Br were also prepared and separated. The stereochemical correlation between (+) and (-)-PVHD121 and (+) and (-)-PVHD121Br became clear. The most active racemate ever is PVHD303. Its enantiomers were separated and tested for their antiproliferative activity and one of them were ca. ten times active than the other. Bromo-substituted version of it, PVHD303Br was also synthesized and separated into enantiomers. X-ray crystallographic analysis of bromo-isomers would elucidate the absolute stereochemistries of the enantiomers of PVHD121, PVHD121Br, PVHD303, PVHD303Br.

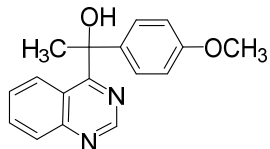
研究分野：有機化学

キーワード：合成化学 創薬化学 有機分子触媒

様式 C-19、F-19、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我が国の死因の第一位はがんであり、全死因の30%、年間30万人以上ががんにより死亡している。この現状から、がん診療のための新しい治療法・治療薬の開発が求められている。この背景のもと行われたスクリーニングで、研究代表者が合成したキナゾリン誘導体 PVHD0121 が、ヒト肺がん細胞株 A549 などのがん細胞に対する増殖阻害活性を持つことが見出された。



PVHD0121	GI ₅₀ 0.27 μM
(+)体	GI ₅₀ 0.17 μM
(-)体	GI ₅₀ 2.3 μM

本物質は A549 細胞に 72 時間接触した場合、GI₅₀ 値 0.25-0.41 μM で細胞増殖を阻害した。また他の各種がん細胞株 (PC3, HCT116, MCF7, HeLa, H460) に対しても GI₅₀ 値 0.1-0.3 μM の増殖阻害活性を示した。さらに PI 染色と抗リン酸化ヒストン H3 抗体を用いたフローサイトメトリー解析により、本物質が細胞周期を M で停止させることが明らかとなった。PVHD0121 が細胞周期 M 基停止の表現型を示すことから、その標的タンパク質をチューブリンと推定し、in vitro および細胞内におけるチューブリン阻害活性を検討した。その結果、PVHD0121 が濃度依存的にチューブリン重合阻害を示すことが判明した。PVHD0121 はラセミ体として合成された化合物だが、光学カラムにより (+)体と (-)体に分割し、がん細胞増殖阻害活性を試験したところ、各々 GI₅₀ 値が 2.3 μM と 0.17 μM であった。またチューブリン重合阻害活性も (+)体でより強い阻害を示した。

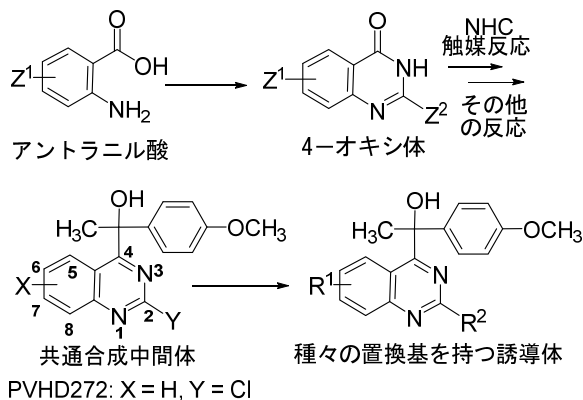
2. 研究の目的

がん細胞増殖阻害活性を持つキナゾリン誘導体 PVHD0121 の作用機序を解明し、切実な社会的要請である副作用を克服した新規抗がん剤を開発することを目的とし、研究を開始した。チューブリンとの相互作用を解析するとともに、将来的には新たな標的分子検出やその結合部位への競合阻害活性解析ツールとなるにプロブ分子をデザイン・合成する。抗がん活性向上のための構造最適化を目的とした PVHD0121 誘導体の合成と構造活性相関研究を行った。PVHD121 はラセミ体であるが、(+体)と(-体)では阻害活性の強度が異なる。各鏡像異性体の絶対立体配置の決定を目指した。

3. 研究の方法

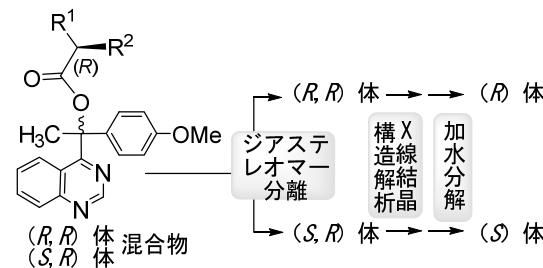
(1) 構造活性相関研究として、共通の合成中間体 PVHD272 を合成し、この化合物からの各種誘導体合成を行った。他の経路にても、

誘導体合成した。

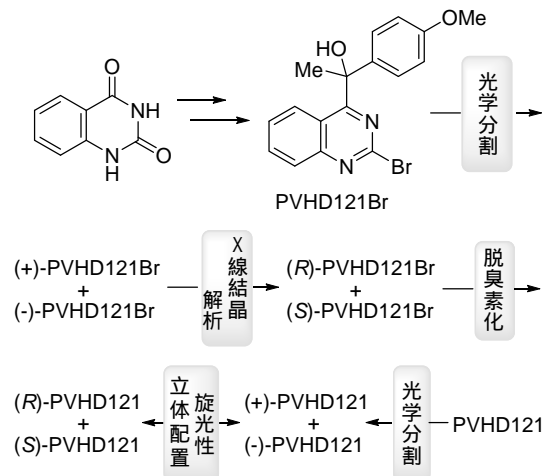


(2) 絶対立体配置の決定を以下の方法にて計画した。

ラセミ体である PVHD121 から、Moscher エステルなどを合成することでジアステレオマー化し、これを分割する。X 線結晶構造解析によりジアステレオマーの立体配置を決定する。立体配置が決定されたジアステレオマーを加水分解などにより光学活性体の PVHD121 へと変換し旋光度を測定することで、(+体)と(-体)がそれぞれ(R体)と(S体)のいずれであるかを決定する。



PVHD121 誘導体は重元素を持たないため、その光学活性体の X 線構造解析では各鏡像異性体の絶対立体配置を知ることはできない。そこで PVHD0121 ラセミ体の臭素化物 PVHD0121Br を合成・光学分割し、X 線構造解析にて絶対立体配置を決定することとした。その後、脱臭素化反応にて光学活性な(+)-あるいは(-)-PVHD0121 へと変換することで、絶対立体配置の決定を目指した。



(3) 最も抗がん活性の高い PVHD303、およびその臭素化体 PVHD303Br に関して、各鏡像異性体の分割と、機器分析を行った。

4. 研究成果

(1) 新規 PVHD 誘導体を合成し、肺がん細胞に対する増殖阻害活性を試験したところ、PVHD121 と比較し、数十倍活性の高い化合物を多く見出した。

(2) ヒドロキシ基のアシル化によるジアステレオマー化を試みたが、立体的に混み合った構造のため目的生成物を得ることができなかった。

PVHD121Br のラセミ体を合成し、キラルカラムクロマトグラフィーにて分割した。脱プロモ化反応前後の旋光度測定により、PVHD121 の(+)-体および(-)-体が PVHD121Br のどちらの鏡像異性体に対応するか確認できた。PVHD121Br (+)体あるいは(-)体の X 線構造解析により、PVHD121 (+)体および(-)体の絶対立体配置が決定できる。

(3) PVHD303 の鏡像異性体間の活性の差を比較できた。一方の異性体は他方に比べ約 10 倍活性が高いことが分かった。PVHD303Br に関する鏡像異性体を分割できた。今後の X 線構造解析により、絶対立体配置が決定できる。

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 3 件)

Kenta Kuroiwa, Hirosuke Ishii, Kenji Matsuno, Akira Asai, Yumiko Suzuki: Synthesis and Structure-Activity Relationship Study of 1-Phenyl-1-(quinazolin-4-yl)ethanols as Anticancer Agents. *ACS Med. Chem. Lett.* **2015**, 6, 287-291.

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/ml5004684>

Yumiko Suzuki, Junichiro Wakatsuki, Mariko Tsubaki, Masayuki Sato: Imidazolium-based chiral ionic liquids: Synthesis and application. *Tetrahedron* **2013**, 69, 9690-9700.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S00404020130141305>

Yumiko Suzuki, Mai Murofushi, Kei Manabe: One-pot synthesis of unsymmetrical benzils and N-heteroarenes through nucleophilic arylation catalyzed by N-heterocyclic carbene. *Tetrahedron* **2013**, 69, 470-473.

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0040402012017322>

[学会発表](計 24 件)

Yumiko Suzuki: N-Heterocyclic carbenes as Organocatalysts for the Syntheses of Bioactive Compounds.; 30th Philippine Chemistry Congress, April 15, 2015, Manila (Philippines).

伊藤早紀、北村太樹、眞鍋 敬、鈴木由美子、NHC 触媒反応を用いた termicalcicolanone A の合成研究、日本化学会第 95 春季年会、2015 年 3 月 28 日、日本大学(千葉県・船橋市)

竹内アイリーン、杉村里紗、鈴木由美子、NHC 触媒反応を用いた citreamicin の合成研究、日本化学会第 95 春季年会、2015 年 3 月 28 日、日本大学(千葉県・船橋市)

大竹 諒、本山実穂、SZYLD Malgorzata、HIBNER Paulina、WITULSKI Bernhard、鈴木由美子、キナゾリン骨格を基盤とする新規蛍光団の開発 II、日本化学会第 95 春季年会、2015 年 3 月 28 日、日本大学(千葉県・船橋市)

本山実穂、SZYLD Malgorzata、HIBNER Paulina、WITULSKI Bernhard、鈴木由美子、キナゾリン骨格を基盤とする新規蛍光団の開発 I、日本化学会第 95 春季年会、2015 年 3 月 28 日、日本大学(千葉県・船橋市)

土橋滉平、岩田直人、石坪江梨香、常盤広明、鈴木由美子、NHC 触媒反応・求核的アシル化における Breslow 中間体の反応性、日本化学会第 95 春季年会、2015 年 3 月 27 日、日本大学(千葉県・船橋市)

杉村里紗、竹内アイリーン、鈴木由美子、抗菌活性天然物 Citreamicin の合成研究、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 27 日、神戸学院大学(兵庫県、神戸市)

中川瑞樹、鈴木由美子、NHC 触媒を用いたキナゾリン環 5-8 位への求核的アロイル化反応、日本化学会第 95 春季年会、2015 年 3 月 26 日、日本大学(千葉県・船橋市)

北原由梨、角井杏帆、宇都宮宗広、田澤佳苗、眞鍋 敬、鈴木由美子、Termicalcicolanone B の合成研究、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 26 日、神戸学院大学(兵庫県、神戸市)

本山実穂、SZYLD Malgorzata、HIBNER Paulina、WITULSKI Bernhard、鈴木由美子、蛍光性キナゾリン誘導体の合成とその蛍光特性、CSJ 化学フェスタ、2014 年 10 月 16 日、タワーホール船堀(東京・江戸川区)

土橋滉平、岩田直人、石坪江梨香、常盤広明、鈴木由美子、求核的アシル化反応の開発研究、CSJ 化学フェスタ、2014 年 10 月 16 日、タワーホール船堀(東京・江戸川区)

- 杉村里紗、竹内アイリーン、鈴木由美子、Citreamicin の合成研究、CSJ 化学フェスタ、2014 年 10 月 15 日、タワーホール船堀（東京・江戸川区）
- 北原由梨、角井杏帆、宇都宮宗広、田澤佳苗、眞鍋 敬、鈴木由美子、NHC 触媒を用いた Termicalcicolanone B の合成研究、CSJ 化学フェスタ、2014 年 10 月 15 日、タワーホール船堀（東京・江戸川区）
- 黒岩建太、石井浩介、松野研司、浅井章良、鈴木由美子、がん細胞増殖粗大活性を有するキナゾリン誘導体の構造活性相関研究、CSJ 化学フェスタ、2014 年 10 月 14 日、タワーホール船堀（東京・江戸川区）
- 中川瑞樹、鈴木由美子、キナゾリン環 5-8 位への求核的アロイル化、CSJ 化学フェスタ、2014 年 10 月 14 日、タワーホール船堀（東京・江戸川区）
- 土橋滉平、岩田直人、石坪江梨香、常盤広明、鈴木由美子、求核的アシル化反応の開発および反応解析研究、第 44 回複素環化学討論会、2014 年 9 月 11 日、札幌市民ホール（北海道、札幌市）
- 本山実穂、SZYLD Malgorzata、HIBNER Paulina、WITULSKI Bernhard、鈴木由美子、蛍光性キナゾリン誘導体の合成、第 44 回複素環化学討論会、2014 年 9 月 10 日、札幌市民ホール（北海道、札幌市）
- 土橋滉平、岩田直人、鈴木由美子、求核的アシル化剤の開発研究、日本化学会第 94 春季年会、2014 年 3 月 28 日、名古屋大学（名古屋市、愛知県）
- 竹内アイリーン、杉村里紗、北原由梨、角井杏帆、鈴木由美子、NHC 触媒反応を用いたキサントン天然物の合成研究、日本化学会第 94 春季年会、2014 年 3 月 28 日、名古屋大学（名古屋市、愛知県）
- 黒岩建太、石井浩介、松野研司、浅井章良、鈴木由美子、有機分子触媒を用いたキナゾリン化合物の誘導化とがん細胞増殖阻害活性評価、日本化学会第 94 春季年会、2014 年 3 月 28 日、名古屋大学（愛知県・名古屋市）
- 21 黒岩建太、石井浩介、松野研司、浅井章良、鈴木由美子、がん細胞増殖阻害活性を有するキナゾリン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、アステールプラザ、広島県・広島市）
- 22 Yumiko Suzuki, Maki Shinozaki, Mai Murofushi, Kei Manabe、Synthesis of N-heteroarenes through nucleophilic arylation catalyzed by N-heterocyclic carbene, The First International Conference and the Sixth Meeting of Advanced Molecular, May 27, 2013, Otsu Prince Hotel, (Shiga, Otsu)
- 23 鈴木由美子、がん細胞増殖阻害活性を有するキナゾリン誘導体の合成、第 42 回複

- 素環化学討論会、2012 年 10 月 13 日、京都テルサ（京都府・京都市）
- 24 鈴木由美子、有機分子触媒反応を用いる含窒素化合物の合成、第 5 回 有機触媒シンポジウム(<兼> 第 2 回公開シンポジウム)、2012 年 10 月 27 日、学習院大学（東京都、豊島区）

〔その他〕

ホームページ等

上智大学物質生命理工学科鈴木由美子研究室 http://www.mls.sophia.ac.jp/~yumiko_suzuki/

6. 研究組織

(1) 研究代表者

鈴木 由美子 (SUZUKI Yumiko)

上智大学・理工学部物質生命理工学科・准教授

研究者番号： 20295546