

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 7 日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670049

研究課題名(和文) 多剤耐性がん細胞を克服する新規化合物の創製と新規創薬標的蛋白質の探索

研究課題名(英文) Development of a novel compound and a novel target protein for multi-drug resistant cancer

研究代表者

有澤 光弘 (ARISAWA, Mitsuhiro)

大阪大学・薬学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40312962

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：がん細胞が複数の薬剤に対して耐性となる多剤耐性現象の一因は、ABCトランスポーターと呼ばれる薬剤排出ポンプの過剰発現であり、複数のABC蛋白質が知られているがその詳細はまだ詳らかではない。一方、多剤耐性克服物質としてシクロオキシゲナーゼ(COX)阻害剤が知られており、臨床使用されているが、長期投与するとCOX阻害由来の問題があったものの、がん細胞MDRとの相関は不明であった。上記背景下、つい最近申請者らはCOX阻害活性を有さない多剤耐性克服物質インドール誘導体 A、B を発見した。本研究では、新規化合物A、Bをリード化合物とし、副作用の少ない新規多剤耐性克服物質の創製を目指した。

研究成果の概要(英文)：We designed and synthesized conformationally restricted analogues and regioisomers of the nonsteroidal anti-inflammatory drug indomethacin. Evaluation of the inhibitory effects of these compounds on COX, P-glycoprotein, and multidrug-resistance indicated that NSAIDS modulation of multidrug resistant P-glycoprotein and multidrug-resistant protein-1 is not associated with COX-1 and COX-2 inhibitory activities.

研究分野：創薬科学

キーワード：多剤耐性 シクロオキシゲナーゼ インドール

1. 研究開始当初の背景

がん細胞が複数の薬剤に対して耐性となる多剤耐性 (Multi-drug resistance: MDR) 現象の一因は、ABC (ATP - binding cassette) トランスポーターと呼ばれる薬剤排出ポンプ (図1) の過剰発現であり、複数の ABC 蛋白質が知られているがその詳細はまだ詳らかではない。一方、多剤耐性克服物質としてシクロオキシゲナーゼ (COX) 阻害剤が知られており、臨床使用されているが、長期投与すると COX 阻害由来の問題があったものの、がん細胞 MDR との相関は不明であった。

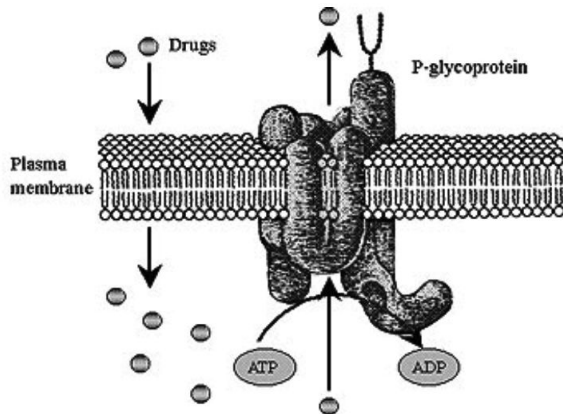
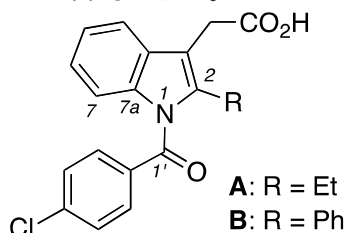


図1 薬剤排出ポンプ (ヒト P-glycoprotein)

2. 研究の目的

つい最近申請者らは COX 阻害活性を有さない多剤耐性克服物質インドール誘導体 A、B (図2) を発見した。本研究では、新規化合物 A、B をリード化合物とし、副作用の少ない新規多剤耐性克服物質を創製することを目的とする。



COX-1/2 阻害活性無し

図2 多剤耐性克服物質 (A, B)

3. 研究の方法

・インドール誘導体ライブラリーの合成 (担当: 有澤) 申請者らがつい最近見いだしたインドール誘導体 A、B (図2) は COX 阻害剤インドメタシンと同等にがん細胞の MDR 感受性は低下させるが、COX 阻害活性を有さない (IC₅₀ >400)。そこで、A、B の化学構造を礎に、より活性の強い多剤耐性克服物質を創製する。具体的には 200 化合物前後のインドールライブラリー (C) (図3) を合成する。現在の μM レベルの活性を nM レベルに引き上げることを目指す。

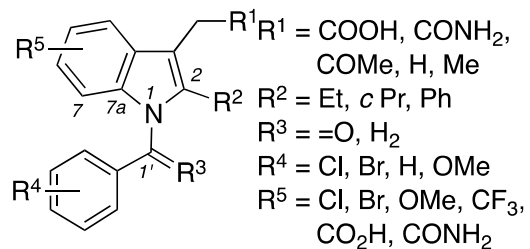


図3 新規インドールライブラリー (C)

・新規多剤耐性克服物質の活性評価 (担当: 中村) 上で合成するインドールライブラリー (C) の COX 阻害活性、MDR 阻害活性だけでなく、各種 ABC トランスポーター阻害活性を評価する。

・2,3-二置換インドール新規合成法の開発 (担当: 有澤) インドール誘導体の合成法は多数報告されているが、望みの位置に望みの置換基を有する 2,3-二置換インドールの合成法は現代でもチャレンジングな研究課題である。申請者はこれまでにインドール誘導体 (A, B) をエナミド-エヌメタセシスを鍵反応に用いて合成してきたが、より効率の良い合成法の開発が本研究を成功させる為に必要である。本研究では、申請者が見いだした含窒素複素環カルベン錯体を有するルテニウムヒドリド (Angew. Chem. Int. Ed. 2004, J. Org. Chem. 2006) を用い、オレフィン・ジエン・アレーンの反応特性を巧みに利用し、2,3-二置換インドールの新規合成法を開発する。従来法と相補的に用いることにより、これまでよりもより多様な多置換インドールライブラリーを簡便且つ迅速に構築することが可能になる。

4. 研究成果

・インドール誘導体ライブラリーの合成 (担当: 有澤) 申請者らが開発したエナミドメタセシス等を駆使し、新規インドールライブラリー (C) (図3) を合成した。即ち、R1 のカルボキシル基が、アミド、ケトン、水素、メチル基となった誘導体、R2 がエチル基、シクロプロピル基、フェニル基の誘導体、R3 がカルボニル基あるいはメチレンの誘導体、R4 に様々な置換基を有するアリール誘導体、更には R5 に様々な置換基を有するインドール誘導体を合成した。

・新規多剤耐性克服物質の活性評価 (担当: 中村) 上で合成したインドールライブラリーの COX 阻害活性、MDR 阻害活性だけでなく、各種 ABC トランスポーター阻害活性を評価した。その結果、現在のところ、A、B と同程度の活性を有する化合物を得ることに成功しているが、この域を出る更に優れた化合物の発見には至って無い。

・2,3-二置換インドール新規合成法の開発 申請者が見いだした含窒素複素環カルベン錯体を有するルテニウムヒドリド (Angew. Chem. Int. Ed. 2004, J. Org. Chem.

2006) を用いたところ、オレフィン・アルキンの反応特性を巧みに利用し、2, 3-二置換インドールの新規合成法を開発することに成功した。

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 2 2 件)

“Formation of self-assembled multi-layer stable palladium nanoparticles for ligand-free coupling reactions” Mitsuhiro Arisawa, Mohammad Al-Amin, Tetsuo Honma, Yusuke Tamenori, Satoshi Arai, Naoyuki Hoshiya, Takatoshi Sato, Mami Yokoyama, Akira Ishii, Masaki Takeguchi, Tsuyoshi Miyazaki, Masashi Takeuchi, Tomohiro Maruko, Satoshi Shuto, *RSC Adv.* **2015**, 5, 676–683.

“Conformationally Restricted GABA with Bicyclo[3.1.0]hexane Backbone as the First Highly Selective BGT-1 Inhibitor” Takaaki Kobayashi, Akihiro Suemasa, Arisa Igawa, Soichiro Ide, Hayato Fukuda, Hiroshi Abe, Mitsuhiro Arisawa, Masabumi Minami, Satoshi Shuto, *ACS Med. Chem. Lett.* **2014**, 5, 889-893.

“Palladium-Nanoparticle-Catalyzed 1,7-Palladium Migration Involving C-H Activation, Followed by Intramolecular Amination: Regioselective Synthesis of N1-Arylbenzotriazoles and an Evaluation of Their Inhibitory Activity Towards Indoleamine 2,3-Dioxygenase” Koji Takagi, Mohammad Al-Amin, Naoyuki Hoshiya, Johan Wouters, Hiroshi Sugimoto, Yoshitsugu Shiro, Hayato Fukuda, Satoshi Shuto, Mitsuhiro Arisawa, *J. Org. Chem.* **2014**, 79, 6366-6371. [Highlighted in *SYNFACTS* **2014**, 1144.]

“Ligand-free Suzuki-Miyaura Coupling with Sulfur-modified Gold-supported Palladium in the Synthesis of a Conformationally-Restricted Cyclopropane Compound Library with Three-Dimensional Diversity” Mitsuhiro Arisawa, Takatoshi Sato, Naoyuki Hoshiya, Mohammad Al-Amin, Yuji Kogami and Satoshi Shuto, *ACS Combi. Sci.* **2014**, 16, 215-220.

“Structurally Novel Highly Potent Proteasome Inhibitors Created by the Structure-Based Hybridization of Non-Peptidic Belactosin Derivatives and Peptide Boronates” Shuhei Kawamura, Yuka Unno, Akira Asai, Mitsuhiro Arisawa and Satoshi Shuto, *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 2726-2735.

“Rational hopping of a peptidic scaffold into non-peptidic scaffolds: structurally novel potent proteasome inhibitors derived from a natural product, belactosin A” Shuhei Kawamura, Yuka Unno, Takatsugu Hirokawa,

Akira Asai, Mitsuhiro Arisawa and Satoshi Shuto, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 2445-2447.

“Palladium-Catalyzed Arylation of Cyclopropanes via Directing Group-Mediated C(sp³)-H Bond Activation To Construct Quaternary Carbon Centers: Synthesis of *cis*- and *trans*-1,1,2-Trisubstituted Chiral Cyclopropanes” Naoyuki Hoshiya, Takaaki Kobayashi, Mitsuhiro Arisawa, Satoshi Shuto, *Org. Lett.* **2013**, 15, 6203-6205.

“Conformational restriction approach to β -secretase (BACE1) inhibitors III: Effective investigation of the binding mode by combinational use of X-ray analysis, isothermal titration calorimetry and theoretical calculations” Shuji Yonezawa, Kenichiro Fujiwara, Takahiko Yamamoto, Kazunari Hattori, Hidekuni Yamakawa, Chie Muto, Motoko Hosono, Yoshikazu Tanaka, Toru Nakano, Hiroshi Takemoto, Mitsuhiro Arisawa, Satoshi Shuto, *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 6506-6522.

“Design and Total Synthesis of Cyclic ADP-4-Thioribose as a Chemically and Biologically Stable Equivalent of Cyclic ADP-Ribose, a Ca²⁺-Mobilizing Second Messenger” Takayoshi Tsuzuki, Satoshi Takano, Natsumi Sakaguchi, Takashi Kudoh, Takashi Murayama, Takashi Sakurai, Minako Hashii, Haruhiro Higashida, Karin Weber, Andreas H. Guse, Barry V. L. Potter, Tomoshi Kameda, Takatsugu Hirokawa, Yasuhiro Kumaki, Mitsuhiro Arisawa, Satoshi Shuto, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2013**, 52, 6633-6637.

“One-Pot Ring-Closing Metathesis (RCM)/1,3-Dipolar Cycloaddition by an Assisted Tandem Ruthenium Catalysis for the Synthesis of a Novel Dye of Isoindolo[2,1-*a*]quinoline Structure” Mitsuhiro Arisawa, Yuki Fujii, Hiroshige Kato, Takashi Matsumoto, Mika Ito, Hiroshi Abe, Yoshihiro Ito, Satoshi Shuto, *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **2013**, 52, 1003-1007. [Highlighted in *SYNFACTS* **2013**, 270.]

[学会発表](計 3 5 件)

自己組織的多層状パラジウムナノパーティクルの開発”(公社)新化学技術推進協会 先端化学技術部会 講演会(平成 25 年 4 月 23 日)於:(社)新化学技術推進協会会議室(東京都千代田区)

“Development of Organometallic Catalysis on Metal Surface” 3rd International Symposium on Molecular Activation(平成 25 年 7 月 26 日)於: Sheraton Steamboat Resort(米国・コロラド州)

“自己組織的多層状パラジウムナノパーティクルの開発”(社)近畿化学協会フロ

ー・マイクロ合成研究会 第 60 回研究会(平成 25 年 11 月 8 日)於:大阪科学技術センター(大阪市西区)

“ Enamide-ene Metathesis and its Application to biologically active compounds ” アジア薬科学会議 2013 (平成 25 年 11 月 21 日)於:濟州島国際会議場(韓国・濟州島)

“ 自己組織的多層状金属ナノ粒子の開発:リガンドフリーカップリング反応 ” 「金属新機能場の開発を目指して」研究会(平成 26 年 2 月 4 日)於:大阪大学基礎工学部ホール(大阪府豊中市)

“ 硫黄修飾金に担持した有機合成用金属ナノ粒子触媒の開発 ” 第 11 回 Spring-8 産業利用報告会(平成 26 年 9 月 4 日)於:姫路商工会議所(兵庫県姫路市)

“ 有機金属触媒を用いた機能性分子の創製 ” 名城大学特別講演会(平成 26 年 10 月 10 日)於:名城大学農学部大講堂(愛知県名古屋市)

“ One-Pot Ring-Closing Metathesis (RCM)/1,3-Dipolar Cycloaddition for the Synthesis of an Isoindolo[2,1-a]quinoline Structure Dye ” ETH Zürich - Osaka Univ. Joint Symposium (平成 26 年 10 月 9 日)於:大阪大学大学院基礎工学研究科ホール(大阪府豊中市)

6. 研究組織

(1)研究代表者

有澤 光弘 (ARISAWA, Mitsuhiro)
大阪大学・大学院薬学研究科・准教授
研究者番号:

(2)研究分担者

中村 智徳 (NAKAMURA, Tomonori)
慶応義塾大学・薬学部・教授
研究者番号: