

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 1 日現在

機関番号：24403

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2014～2016

課題番号：26410056

研究課題名(和文)ヘテロ原子の配位特性を利用した抗癌性糖連結キノリノール白金・パラジウム錯体の合成

研究課題名(英文) Synthesis of Glucosamine Introduced Platinum and Palladium Complexes and Their Anti-Cancer Activities Based on Heteroatom Chemistry

研究代表者

野元 昭宏 (Nomoto, Akihiro)

大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60405347

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：グルコサミン白金、グルコサミンパラジウム錯体について、国立がんセンター難治性癌部門での転移抑制効果について調べた。CDCP1-PKC 経路のシグナルを抑える薬剤として投与したところ、マウス実験において高い転移抑制効果を示した。さらにCisplatin耐性胃癌細胞およびその耐性細胞(MKN28-R, MKN45-R)に対して、強力な抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。マンノース体の合成、およびヨウ素体の合成ではマンノースでは隣接基効果による反応阻害が考えられ目的物の単離は困難であった。そこでスペーサーを導入することで、対応するパラジウムおよび白金錯体を合成することに成功した。

研究成果の概要(英文)：We focused on the conjugation of sugar to improve metal complexes as anti cancer drugs. Cancer cells have a higher affinity for glucose than regular healthy cells, thus incorporation of glucose moiety to metal complex may produce the efficient anticancer reagent uptaken into cancer cells. Taking advantage of this property, required amount of chemotherapeutic reagents can be reduced. Glucosamine-conjugated palladium and platinum complexes have been synthesized and anti-cancer properties were investigated. To prevent elimination of metal, quinolinol ligand was used to afford complexes. From the results of X-ray analysis, each molecular structure is almost same between Pt and Pd complexes. However, the anticancer activities were quite different.

研究分野：有機典型元素化学

キーワード：有機元素化学 抗がん剤 錯体化学 有機合成化学

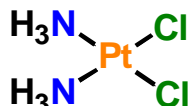
### 1. 研究開始当初の背景

ヘテロ元素の利用は医・農薬、分子材料、高分子形成など種々の現代科学に欠くことのできない物材料質の構成手法となっており、ヘテロ元素の自在な導入反応の開発は近年さらに重要度を増している。本研究ではヘテロ元素の反応性、配位特性を利用した抗癌性錯体の開発を行うものである。癌は遺伝子の複製ミスによって引き起こされる深刻な病であり、歳を重ねるにつれて罹病のリスクは飛躍的に増大する。癌の治療法は、光線力学療法・外科治療・放射線療法・温熱療法・化学療法・免疫療法など様々であるが、未だその死亡率は高く、しかも人口の高齢化が進む我が国では、癌は1981年から死因の第一位であり、最近では総死亡の約3割を占めるに至っている。

特に進行性・若年性悪性腫瘍については、即効性のある化学療法が有効な治療法であるにもかかわらず、研究開始当初から現在までも、治療薬は限られたものとなっている。その中でもシスプラチン (Figure 1) は高い効果を有する白金錯体薬剤であり、強い副作用にもかかわらず、誘導体を含め、臨床現場で多用されている。

Figure 1.

シスプラチン



抗癌性白金錯体薬剤は副作用が小さいカーボプラチンなど4種が臨床薬として用いられており、より高活性な薬剤開発が強く望まれている。

### 2. 研究の目的

本研究は、癌治療に化学者の立場から貢献すべく、ヘテロ元素の配位に基づく白金・パラジウム錯体の抗癌特性を利用し、化学療法に応用できる貴金属錯体の新規開発を医・工連携研究として推進するものである。

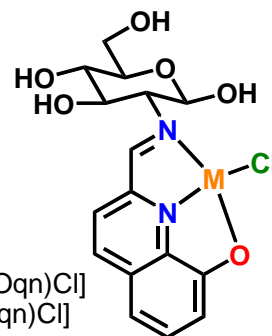
研究期間内では、癌細胞の選択性の解明に重点を置き、種々の糖を用いて白金・パラジウム錯体を合成し、新薬剤の開発を行うとともに抗癌作用について調査する。

白金錯体とは異なる細胞選択性はパラジウム錯体においても検討がされている。我々は研究開発当初、抗癌作用を有する糖鎖連結錯体を合成するために、錯体配位子への糖部位の導入法について検討を行っており、グルコサミンのアミノ基が容易にシッフ塩基に変換可能であることを利用して、ピリジン誘導体グルコサミン連結錯体を合成し、その構造を明らかにしてきた (Figure 2)。

本研究で目指す新抗癌性薬剤開発は、白金・パラジウム錯体種によってのみ達成されることが考えられる。現在、多方面から癌研究が進められているが、悪性腫瘍に対する直接的な治療法として化学療法は有力な治療法である。本研究で取り上げる錯体薬剤を抗癌性

Figure 2.

グルコサミン  
連結錯体



M = Pd [Pd(GlcN=Oqn)Cl]  
Pt [Pt(GlcN=Oqn)Cl]

錯体と位置付け、新薬剤の開発につなげることは、癌細胞への取り込み機構とDNAへの結合機構、さらにその結果、発現されるアポトーシスを解明する研究領域を新たに開拓することから、医・工連携研究の融合研究はがん治療に有意義な成果をもたらすと考えられる。悪性腫瘍の発現機構は未だ解明されていないが、治療に有効な活性薬剤の開発がアポトーシスを引き起こす酵素機能を解明することにつながり、当該領域の生体反応解明のために化学面から開発に大きく貢献可能と考えられる。

### 3. 研究の方法

研究開始当初、ピリジン誘導体グルコサミン連結錯体は、アミノ糖であるグルコサミンのアミノ基が容易にシッフ塩基に変換可能であることを利用することで合成していた。予備的検討として、パラジウム錯体の合成については、既存の手法で目的の錯体を54%の収率で単離したが、白金錯体は同手法では合成できず、新たに原料の白金錯体を有機溶媒に可溶性白金錯体に変更して検討することにより、目的の糖鎖連結錯体を合成することが可能となった。

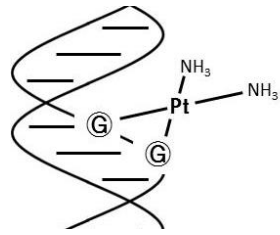
この確立した手法に基づき、糖鎖部位については、まずアミノ糖を中心に既法に従って合成予定とした。入手可能なグルコサミン、マンノサミン、ガラクトサミンについて、錯体形成を行った。

糖の化学変換は反応点が類似していることから困難さを伴うが、ヘテロ元素の配位特性を利用し、中心金属に対する配位性の違いに基づく反応試薬の選択を検討した。

研究体制として、代表者の野元グループでは、合成、錯体薬剤の多様化、誘導化を主に担当し、同時にシーズ発表、学会発表を中心に活動した。分担者の片岡准教授グループでは細胞レベルでの抗癌特性、細胞選択性を中心に検討し、また矢野教授グループでは分子構造決定と企業共同研究の探索、展示会出席を主に担当した。

また抗癌機構の発現について化学的見地から検討した。一般に細胞内反応は様々な相互作用が多いため、十分な解決には至っていないが、シスプラチンについては作用機構が明らかになりつつある (Figure 3)。

Figure 3.  
DNA に対する  
配位作用機構



これは DNA へ配位点が 2 か所の錯体であり、それにより大きく DNA を折り曲げ、酵素による分裂、複製を阻害している。本研究で対象としている糖鎖連結白金・パラジウム錯体は 1 か所のモノコーディネート型による抗癌機構と考えられる。反応機構の解明のため、錯体化学的観点から、配位子の交換反応を紫外可視吸収スペクトルにより、MLCT バンドを観測することにより追跡し、加水分解速度とグアニンの配位について調査した。また、配位部位を主にカルコゲン原子、リン原子を中心に化学的に変換可能かについて検討するとともに、ヨウ素体やイリジウム体の合成についても検討した。

#### 4. 研究成果

まず、合成したグルコサミン-白金、グルコサミン-パラジウム錯体について、矢野グループのライブラリ登録の結果、国立がんセンター難治性癌部門からの試験依頼があり、作用機構、および転移抑制効果について調べた。

膜蛋白質 CDCP1 (CUB domain-containing protein) は、転移性腫瘍において足場非依存性や浸潤能などを制御する重要な分子であり、CDCP1-PKC $\delta$  経路のシグナルを抑える薬剤を探索する目的で、CDCP1 と PKC $\delta$  の結合を阻害する化合物として投与したところ、マウス実験において高い転移抑制効果を示した (Figure 4)。

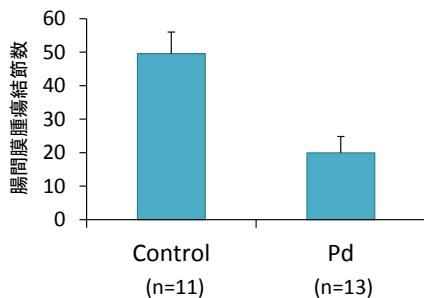


Figure 4.  
高転移性胃癌細胞 (44As3) の腹膜播種転移マウスモデルにおける転移結節数比較

さらに片岡グループでも Cisplatin 耐性胃癌細胞およびその耐性細胞 (MKN28-R, MKN45-R) に対して、強力な抗腫瘍効果を発揮することを明らかにした。

代表者の野元グループではマンノース体の合成、およびヨウ素体の合成を行った。

しかしながら、特にマンノースでは隣接基

効果による反応阻害が考えられ目的物の単離は困難であった。そこでスペーサーを導入することで、対応するパラジウムおよび白金錯体を合成することに成功した (Figure 5)。

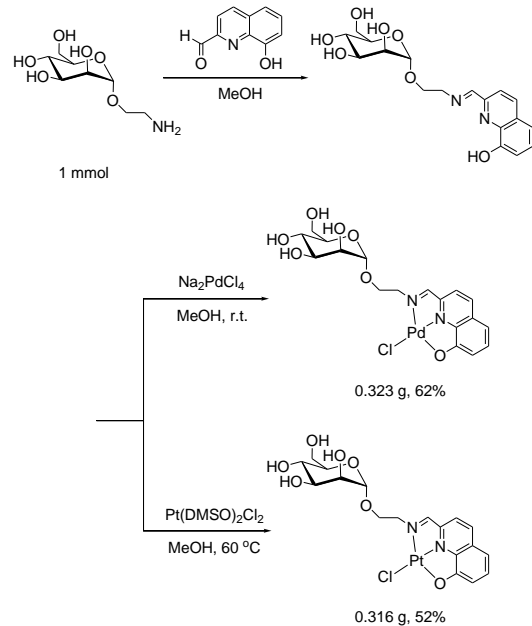


Figure 5. マンノース錯体の合成

抗癌活性の作用機構を調べるために、グルコサミン錯体の配位子交換速度を算出した。塩化物イオンと水との交換反応を UV-vis. スペクトルで追跡したところ、白金とパラジウムの各錯体で明確な違いが見られ、パラジウム錯体の加水分解速度が大幅に速いことが明らかとなり、従来報告されていることと同様の結果であったが、*in vitro* ではパラジウム、*in vivo* では白金錯体が高い抗癌活性を示した。これはパラジウム錯体が患部に到達する前に反応したことが予想され、より脱離速度が遅いヨウ素体 ([Pd(GlcN=Oqn)I]) をヘテロ元素の性質を利用して合成した (Figure 6)。

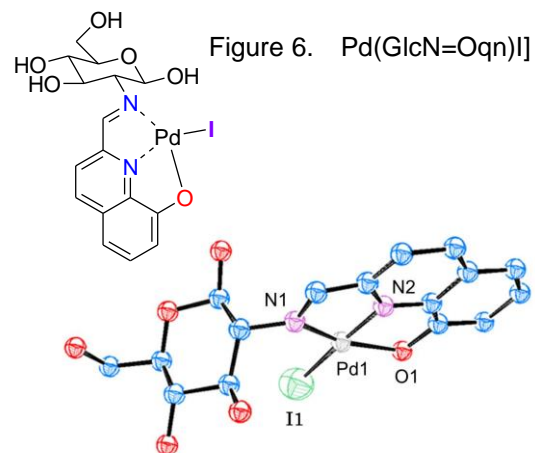


Figure 6. Pd(GlcN=Oqn)I

加水分解速度を測定したところ、塩素体 ([Pt(GlcN=Oqn)Cl]) は  $k = 3.8 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  で、ヨウ素体は  $k = 1.4 \times 10^{-5} \text{ s}^{-1}$  と 2 倍以上の差があ

ることが明らかとなった (Figure 7)。

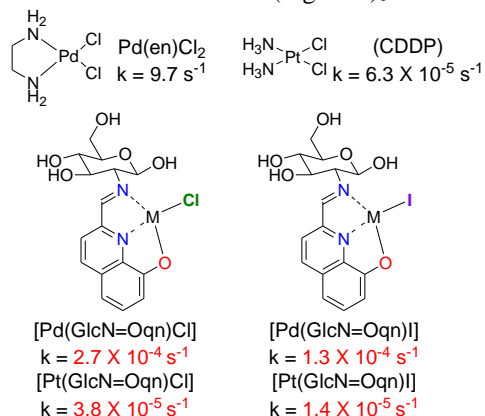


Figure 7. 加水分解速度

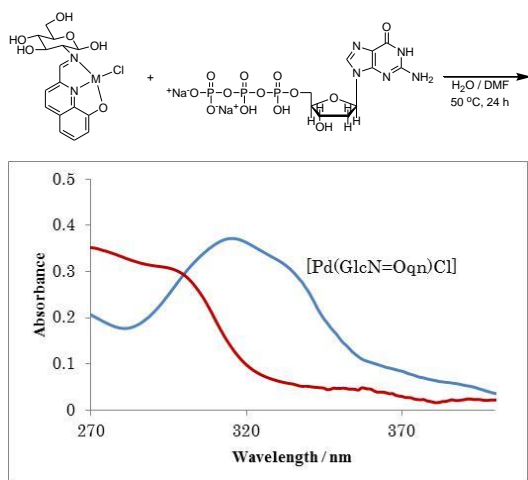
抗癌活性を評価したところ、ヨウ素体がより高い抗癌活性を示した (Table 1)。従って、錯体周辺の電子的環境が、体内における抗癌剤の動態に大きく影響することが分かり、in vitro において、単に高い抗癌活性を有することが、薬剤投与を含めた総合的な実用化では短絡的に関連付けることはできないことが示唆された。

Table1. 抗癌活性評価

Reagents	MKN 45, IC <sub>50</sub> (μM)
CDDP	88.3
[Pd(GlcN=Oqn)Cl]	40.5
[Pt(GlcN=Oqn)Cl]	132.7
[Pd(GlcN=Oqn)]	13.4
[Pt(GlcN=Oqn)]	27.2

加水分解可能であったことから、DNA 構成ユニットであるグアノシン誘導体との反応を試みた (Figure 8)。

Figure 8. 核酸ユニットとの反応



その結果、パラジウム錯体において、明瞭な変化を観測することに成功した。現在、配

位形態は不明であるが、MLCT バンドが大きく変化していることから、パラジウムとの配位による錯体を形成していることが示唆され、DNA へ配位点が 1 か所のモノコーディネート型による抗癌機構を示していると考えられる。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 21 件)

- N. Hayashi, H. Kataoka, S. Yano, J.-i. Kikuchi, M. Tanaka, H. Nishie, Y. Kinoshita, M. Hatano, A. Nomoto, A. Ogawa, M. Inoue, T. Mizoshita, T. Shimura, Y. Mori, E. Kubota, S. Tanida and T. Joh “Anticancer Effects of a New Aminosugar-Conjugated Platinum Complex Agent Against Cisplatin-Resistant Gastric Cancer” *Anticancer Res.*, **36**, 6005-6009 (2016). 査読有, DOI: 10.21873/anticancer.11189
- K. Fukumoto, K. Hyakumura, A. Murata, Y. Sakai, S. Yano, A. Nomoto, S. Miyashita, A. Narumi, A. Ogawa “Synthesis of Iridium(III) Complex Bearing 1-Thio-β-D-glucose Tetraacetate moieties and its Photogeneration of Singlet Oxygen” *J. Mater. Sci. Eng. A*, **6** (11-12), 283-288 (2016). 査読有, DOI: 10.17265/2161-6213/2016.11-12.001
- H. Nishie, H. Kataoka, S. Yano, J.-i. Kikuchi, N. Hayashi, A. Narumi, A. Nomoto, E. Kubota, and T. Joh “A Next-Generation Bifunctional Photosensitizer with Improved Water-Solubility for Photodynamic Therapy and Diagnosis” *Oncotarget*, **7**, 74259-74268 (2016). 査読有, DOI: 10.18632/oncotarget.12366
- A. Narumi, T. Tuji, K. Shinohara, Y. Yamazaki, M. Kikuchi, S. Kawaguchi, T. Mae, A. Ikeda, Y. Sakai, H. Kataoka, A. Nomoto, J. Kikuchi, S. Yano “Maltotriose Conjugation to a fluorinated chlorin derivative generating a PDT photosensitizer with improved water-solubility” *Org. Biomol. Chem.*, **14**, 3608-3613 (2016). 査読有, DOI: 10.1039/c6ob00276e
- T. Tamai, M. Yoshikawa, S. Higashimae, A. Nomoto, and A. Ogawa “Palladium-Catalyzed Markovnikov-Selective Hydroselenation of N-Vinyl Lactams with Selenols Affording N,Se-Acetals” *J. Org. Chem.*, **81**, 324-329 (2016). 査読有, DOI: 10.1021/acs.joc.5b02431
- A. Nomoto, T. Taniguchi, Y. Minatobe, S. Katao, K. Kakiuchi, S. Yano, and A. Ogawa “Synthesis of a Novel Cysteine-Incorporated Anthraquinone Derivative and Its Structural Properties” *Molecules*, **20**, 10192-10204 (2015). 査読有, DOI: 10.3390/molecules200610192
- K. Marui, A. Nomoto, H. Akashi, and A. Ogawa “Green Oxidation of Amines to

Imines Based on the Development of Novel Catalytic Systems Using Molecular Oxygen or Hydrogen Peroxide” *Synthesis*, **48**, 31-42 (2015). 査読有, DOI: 10.1055/s-0035-1560363

- ⑧ M. M. Rahman, A. Nomoto, M. Younus, and A. Ogawa “Palladium-Catalyzed Dithiolation of Platinum(II) Alkynylacetylides with Diphenyl Disulfide Leading to Construction of  $\pi$ -Conjugated Systems with Platinum and Thio Groups” *Eur. J. Inorg. Chem.*, **2014**, 2613-1617 (2014). 査読有, DOI: 10.1002/ejic.201402098
- ⑨ 野元昭宏, 小川昭弥 “カルコゲン原子複合導入による共役系分子の合成と分子構造” 有機合成化学協会誌, **72**, 910-918 (2014). 査読無, DOI: 10.5059/yukigoseikyokaisi.72.910

[学会発表] (計 32 件)

- ① 第 26 回金属の関与する生体関連シンポジウム (2016 年 6 月 17 日, 北海道大学, 北海道札幌市) Zhou Kaixin, 野元昭宏, 波多野朱紀, 矢野重信, 小川昭弥 “マンノース部位を有する抗腫瘍性パラジウムおよび白金錯体の合成法の開発”
- ② 第 26 回金属の関与する生体関連シンポジウム (2016 年 6 月 17 日, 北海道大学, 北海道札幌市) 坂本望, 波多野朱紀, 野元昭宏, 中島克彦, 塚隆一, 矢野重信, 小川昭弥 “抗腫瘍性を有する糖連結白金およびパラジウム錯体の合成と転移制御因子相互作用研究への展開”
- ③ 第 19 回ヨウ素学会シンポジウム (2016 年 9 月 16 日, 千葉大学, 千葉県千葉市) 野元昭宏, 波多野朱紀, 坂井優太, 片岡洋望, 矢野重信, 小川昭弥 “グルコサミンを導入した白金およびパラジウム錯体の抗がん活性とヨウ素化”
- ④ The 7th East Asia Symposium on Functional Dyes and Advanced Materials (EAS7) (2015 年 9 月 2 日, 大阪府立大学, 大阪府堺市) A. Nomoto, K. Hyakumura, Y. Sakai, S. Yano, and A. Ogawa “Synthesis of Thioglucose-Conjugated Ir Complex and Its Luminescent Quenching for Oxygen Sensing”
- ⑤ The 7th East Asia Symposium on Functional Dyes and Advanced Materials (EAS7) (2015 年 9 月 2 日, 大阪府立大学, 大阪府堺市) A. Nomoto, A. Murata, T. Fujiyama, M. Ueshima, and A. Ogawa “Photoluminescent and Metal Coordination Properties of Sulfur-Containing  $\pi$ -Conjugated Divinylbenzene Derivatives Synthesized by Regio- and Stereoselective Addition Reactions Catalyzed by  $\text{RhCl}(\text{PPh}_3)_3$ ”
- ⑥ The 7th East Asia Symposium on Functional Dyes and Advanced Materials (EAS7) (2015 年 9 月 2 日, 大阪府立大学, 大阪府堺市) A. Nomoto, T. Taniguchi, K. Kakiuchi, S. Yano, and A. Ogawa “Metal Ion-Sensing Properties of Nobel Anthraquinone Derivatives Bearing Chalcogen-Containing Amino Acid Moieties”
- ⑦ 第 25 回金属の関与する生体関連反応シンポジウム (2015 年 5 月 30 日, 長崎大学, 長崎県長崎市) A. Nomoto, S. Yano, M. Hatano, Y. Sakai, and A. Ogawa “Synthesis of Amino Acid Ester-Introduced Platinum and Palladium Complexes for Anti-tumor Reagents”
- ⑧ 錯体化学会第 65 回討論会 (2015 年 9 月 23 日, 奈良女子大学, 奈良県奈良市) 波多野朱紀, 野元昭宏, 片岡洋望, 矢野重信, 小川昭弥 “シッフ塩基を介する抗腫瘍性糖連結白金及びパラジウム錯体の合成及び抗腫瘍活性評価”
- ⑨ 第 5 回バイオ・メディカル・フォーラム/第 2 回産学連携ヘルスケアナレッジセミナー (2016 年 2 月 19 日, 大阪府立大学, 大阪府堺市) 波多野朱紀, 野元昭宏, 片岡洋望, 矢野重信, 小川昭弥 “抗腫瘍性糖連結白金およびパラジウム錯体の合成と抗がん活性評価”
- ⑩ 錯体化学会第 64 回討論会 (2014 年 9 月 18 日, 中央大学, 東京都) 坂井優太, 野元昭宏, 矢野重信, 小川昭弥 “糖骨格を有する貴金属含有癌治療薬剤の開発”
- ⑪ 第 11 回触媒化学融合研究センター講演会 (2014 年 7 月 28 日, 産総研, 茨城県つくば市) 野元昭宏 (招待講演) “光誘起ラジカル反応および遷移金属触媒反応を利用したヘテロ原子含有共役系化合物の選択的合成”
- ⑫ 大阪府立大学平成 26 年度学長顕彰式典記念講演 (2014 年 8 月 11 日, 大阪府立大学, 大阪府堺市) 野元昭宏 “金属錯体の高機能化に基づく環境低負荷型反応の開発”
- ⑬ 2014 年度同志社大学比叡会講演会 (2014 年 11 月 22 日, 同志社大学, 京都府京田辺市) 野元昭宏 (招待講演) “有機金属錯体の触媒応用とヘテロ元素含有錯体への展開”
- ⑭ 第 41 回有機典型元素化学討論会 (2014 年 11 月 29 日, 宇部市文化会館, 山口県宇部市) 野元昭宏, 坂井優太, 木下佑真, 矢野重信, 小川昭弥 “グルコサミンを導入したキシリノール配位子を有する白金およびパラジウム錯体の加水分解反応と抗がん活性”
- ⑮ 大阪府立大学・和歌山大学「工学研究シーズ合同発表会」(2014 年 11 月 10 日, 和歌山大学岸和田サテライト, 大阪府岸和田市) 野元昭宏 “医工連携研究に基づく糖と低酸素マーカーを結合した抗腫瘍剤の開発”

[図書] (計 2 件)

- ① A. Nomoto, A. Ogawa “HoubenWeyl: Science of Synthesis Knowledge Updates” *Theime Verlag*, 19(1-19) (2015).

- ② A. Nomoto, A. Ogawa “Functionalized Redox Systems, 2.5 Samarium-Induced Reductive Transformation” *Springer*, 5 (18-22) (2015).

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称：ジー及びトリアルメタン染料の製造方法

発明者：小川昭弥、野元昭宏、伊藤詣二、西ヶ花 完

権利者：同上

種類：特許

番号：2015-195563

出願年月日：2015 年 10 月 01 日

国内外の別：国内

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://jstshingi.jp/abst/2007/osakafu1025/program.html#609>

<http://www.chem.osakafu-u.ac.jp/ohka/ohka8/index.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

野元 昭宏 (NOMOTO, Akihiro)

大阪府立大学・工学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：60405347

### (2) 研究分担者

片岡 洋望 (KATAOKA, Hiromi)

名古屋市立大学・医学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：40381785

矢野 重信 (YANO, Shigenobu)

国立大学法人奈良先端科学技術大学院大学・物質創成科学研究科・客員教授

研究者番号：60405347