

研 究 報 告 書
平成 30 年度：A 課題

令和 2 年 4 月 27 日

公益財団法人 がん研究振興財団

理事長 堀 田 知 光 殿

研究施設 長崎大学大学院工学研究科
物質科学部門
住 所 長崎県長崎市文教町 1-14

研究者氏名 福田 勉



(研究課題)

C797S 変異 EGFR もつ非小細胞肺がんに対して有効なラメラリン系 EGFR-TKI の開発

平成 31 年 1 月 29 日付助成金交付のあった標記 A 課題について研究が終了致しましたのでご報告いたします。

【研究の背景と目的】

非小細胞肺がんに対して、上皮成長因子受容体 (Epidermal growth factor receptor, EGFR) のチロシンキナーゼ部位を阻害するゲフィチニブやエルロチニブなどの EGFR-TKI が著効する。しかし治療から 1 年ほどで、EGFR の T790M 変異により非小細胞肺がんはこれらの薬剤に対して耐性を獲得する。この耐性化した非小細胞肺がんに対して新たに第三世代 EGFR-TKI オシメルチニブが開発され、本邦でも 2016 年 5 月より上市されている。しかしながら、EGFR の新たな耐性変異 (T790M/C797S) によりオシメルチニブが無効となることが報告されている。

我々は海洋天然物ラメラリン N に着目し、合成方法論の開発および創薬研究を実施してきた。その過程で、ラメラリン N をベースとして新たに開発した **Lam 14** が、T790M/C797S 耐性変異 EGFR を持つ非小細胞肺がんに対して有効であることを見出した [PCT/JP2018/013370 (2018 年 3 月 29 日出願)] (図 1)。なお **Lam 14** は、マウスゼノグラフトによる C797S 変異 EGFR を持つ非小細胞肺がん細胞 (PC-9) を用いた抗腫瘍試験でも顕著な抗腫瘍活性を示した。

一方で、上記した **Lam 14** 開発の過程で、ラメラリンの B 環部ラクトン環をラクタム環へ変換したアザラメラリン誘導体についても同様に L858R/T790M/C797S 耐性化変異 EGFR 阻害活性評価を実施した (図 1)。その結果、**Azalam 3** が **Lam 14** を凌駕する EGFR 阻害活性を示すことが判明した。

以上を踏まえ本研究の目的は、**Azalam 3** をベースとした C797S 変異 EGFR を持つオシメルチニブ耐性非小細胞肺がんに対して有効なチロシンキナーゼ阻害剤 (EGFR-TKI) の開発とした。

【研究結果】

EGFR キナーゼドメインと **Azalam 3** とのドッキングシミュレーションを実施した。その結果を図 2 に示す。これによると、**Azalam 3** の A 環部に接続している 3-(ジメチルアミノ)プロピル基は、EGFR キナーゼドメインの αD ヘリックス領域に、また F 環部は、EGFR の N-末端ロープ側の P-loop、C-末端ロープ側の A-loop に挟まれた状態で存在していることが予測された。キナーゼにより αD ヘリックス領域の 1 次～2 次構造は異なる。そこで、よりがん選択性を示す阻害剤を創出するために、**Azalam 3** の A 環部ジメチルアミノプロピル基の改変を中心に合成展開を行うこととした。合成展開を行うにあたり、従来の

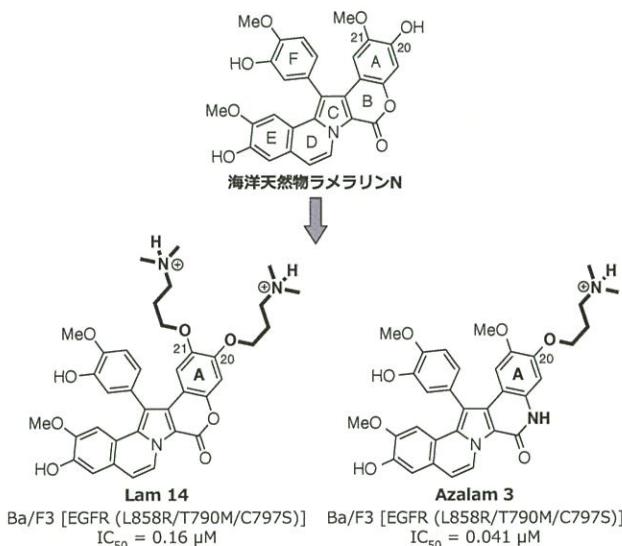


図 1

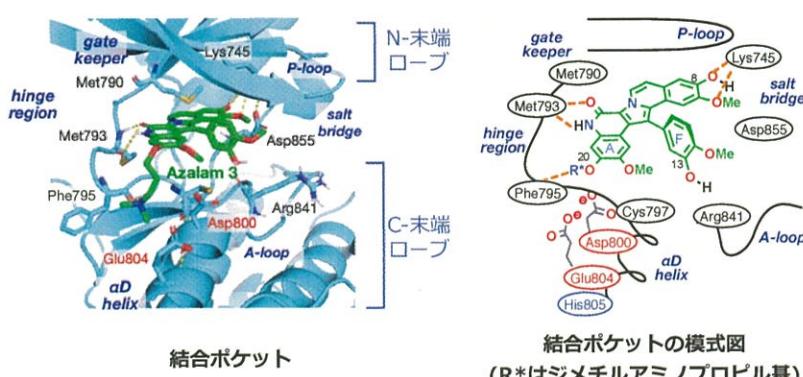


図 2. EGFR キナーゼドメインと **Azalam 3** とのドッキングモデル

Azalam 3 合成法では効率的な面から問題があった。そこで、より効率の高い合成法について検討した(図3)。既に報告している手法(Bioorg. Med. Chem. 2017, 25, 6563)に従い、2,5-ジブロモピロール1から三環性中間体2を合成した。次に、別途合成したボロン酸エステル3とのクロスカッピングを行い4とした後、TBAF処理を行うことで、アザラメラリン骨格を持つ5へと誘導した。引き続き、ベンジル基を除去することで6へと変換した後、3-クロロプロピル基の導入を経て鍵中間体となる7を得た。次にクロロ基からジメチルアミノ基への置換を行い8へ変換した後、イソプロピル基の除去を経て、目的とするAzalam 3へと到達した。

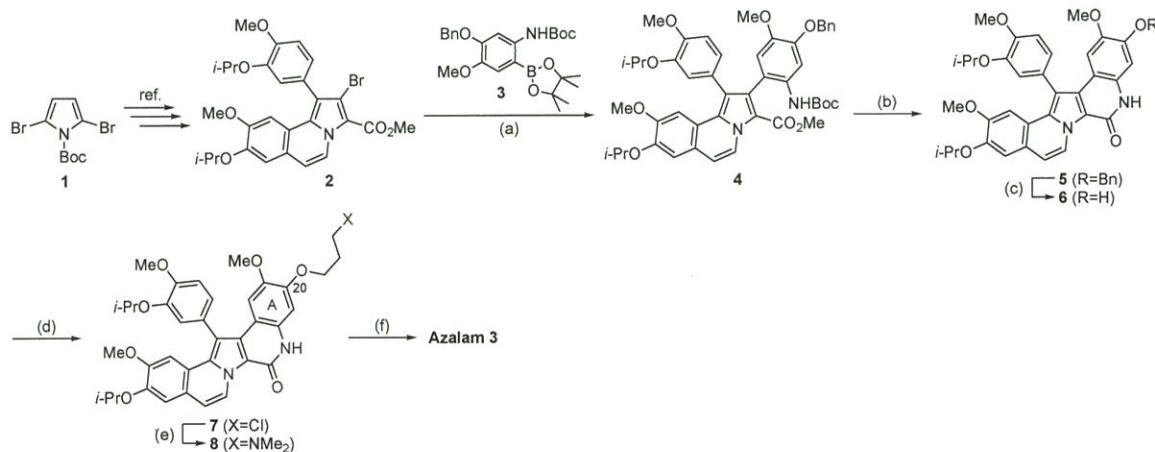


図3. Azalam 3 の合成

Reagents and conditions: (a) 7, $\text{PdCl}_2(\text{dppf})$, Na_2CO_3 , DME, H_2O , 85°C , 24 h (83%); (b) TBAF, THF, 65°C , 20 h (67%); (c) Pd-C, HCOONH_4 , EtOAc, EtOH, reflux, 1 h (90%); (d) $\text{Cl}(\text{CH}_2)_3\text{I}$, K_2CO_3 , acetone, 60°C , 22 h (68%); (e) Me_2NH , KI, CH_3CN , 80°C , 43.5 h (47%); (f) (1) AlCl_3 , DCM, rt, 3 d, (2) TFA (quant).

次に上述した手法を Azalam 3 誘導体合成に応用した(図4)。はじめに鍵中間体7に対して5.0当量のヨウ化カリウムの存在下、DMSO中にて10当量の第二級アミンと 80°C で18時間反応させた。その結果、誘導体7のクロロ基が対応するアルキルアミノ基へと置換された9が得られた。その後、塩化アルミニウムによる保護基の脱保護を経てAzalam 3 誘導体10の合成を達成した。

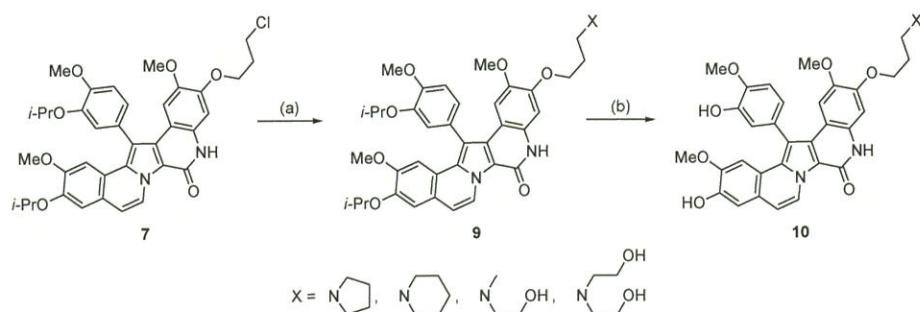


図4. Azalam 3 誘導体の合成

Reagents and conditions: (a) (1) KI (5.0 eq), DMSO, 30 min, (2) secondary amine (10 eq), 80°C , 18 h (49-84%); (b) (1) AlCl_3 , DCM, 3 d, (2) TFA or MsOH (88-92%).

今回合成した誘導体の活性評価については、今後、学会ならびに論文等で発表していく予定である。

【学会発表】

1. 西谷直之, 佐京智子, 奥裕介, 福田勉, 旦慎吾, 矢守隆夫, 石橋郁人, 上原至雅, 岩尾正倫, “薬剤耐性 EGFR T790M/C797S に対する lamellarin と cetuximab の併用効果”, 第 23 回日本がん分子標的治療学会学術集会, 大阪国際交流センター (大阪市天王寺区), W11-2 (2019.6.12-14).
2. 小田亮平, 辻圭弥, 福田勉, 小野寺玄, 木村正成, “F 環部改変ラメラリン N 誘導体合成法の開発”, 第 56 回化学関連支部合同九州大会, 北九州国際会議場 (福岡県北九州市), OC-6-003 (2019.7.13).
3. 宮城一仁, 中野悠香, 福田勉, 小野寺玄, 木村正成, “20 位を改変したアザラメラリン N 誘導体の合成”, 第 56 回化学関連支部合同九州大会, 北九州国際会議場 (福岡県北九州市), OC-6-092 (2019.7.13).
4. 大橋愛美, 福田勉, 岡村睦美, 西谷直之, 宇野佑子, 澤匡明, 岩尾正倫, 旦慎吾, “強い抗がん選択性を持つ CDK4/6 を標的とした新規ラメラリン類縁体の同定”, 第 78 回日本癌学会学術総会, 国立京都国際会館 (京都市左京区), E-3094 (2019.9.26-28).
5. 阿部壮矩, 渡辺菜美, 佐京智子, 奥裕介, 福田勉, 旦慎吾, 矢守隆夫, 石橋郁人, 上原至雅, 岩尾正倫, 西谷直之, “第3 世代 EGFR チロシンキナーゼ阻害薬耐性非小細胞肺癌に対する Lamellarin14 と Cetuximab 併用効果の検討”, 第 58 回日本薬学会東北支部大会, 東北大大学川内南キャンパス (仙台市青葉区), PD-02 (2019.10.20).
6. 宮城一仁, 中野悠香, 福田勉, 小野寺玄, 木村正成, “20 位酸素官能基上の置換基を改変したアザラメラリン N 類縁体の合成”, 日本化学会 第 100 春季年会 (2020), 東京理科大学野田キャンパス (千葉県野田市), 3H4-04 (2020.3.22-25).

【謝辞】

本研究を遂行するにあたり、多大なるご支援を賜りました公益財団法人がん研究振興財団に深く感謝申し上げます。