

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 12 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14974

研究課題名(和文)天然物を利用したヒストン化学修飾剤によるエピジェネティクス制御

研究課題名(英文)Control of epigenetics by chemical modulator based on natural products

研究代表者

市川 聡 (ICHIKAWA, Satoshi)

北海道大学・薬学研究院・教授

研究者番号：60333621

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：DNAビスインターカレーター能を有する環状ペプチド系天然物を母骨格とした誘導体を合成し、そのDNA結合能と*in vitro*ヒトがん細胞増殖抑制活性を評価した。その中で、天然物と同等の活性を有する誘導体を見出す事ができた。さらに類縁天然物であるトリオスチンAとエチノマイシンの合成にも着手し、6個の誘導体を合成した。各種ヒトがん細胞に対する増殖抑制活性を評価したところ、nMオーダーのIC50値を示す化合物を見出す事ができた。さらに、ヒト腎臓がん細胞皮下移植マウスモデルを用いた*in vivo*抗がん活性を示す誘導体を見出した。新規抗がん剤のシーズを見出す事が出来たと言える。

研究成果の概要(英文)：Analogues of DNA bisintercalating natural products were designed and synthesized and their DNA binding properties as well as cytotoxicity against human cancer cells were evaluated. Several analogues exhibit a potent cytotoxicity against a panel of human cancer cells with nM level and some of the analogues also show *in vivo* antitumor activity in the experiments using mouse xenograft model. As a result, we were able to find a promising anticancer lead compound.

研究分野：創薬化学

キーワード：エピジェネティクス 創薬化学 抗がん剤

1. 研究開始当初の背景

ゲノム情報だけでは規定できない、エピジェネティックな遺伝子制御の変動は、発生や細胞分化をはじめとする細胞メカニズムに大きな影響を及ぼす。そのひとつに、ヒストンのリシン残基のメチル化やアセチル化修飾によるクロマチン構造の凝集・弛緩を介した転写因子に依存した制御がある。例えばアセチル化は、ヒストンアセチル化酵素 (HAT) によりリシンにアセチル基を付与することでリシンの正電荷を消失させる。結果としてゲノム DNA との直接の相互作用変化、もしくはその修飾によりリクルートされるタンパク質を制御することで、クロマチン構造に影響を与える。エピジェネティックスの破綻は、様々な疾病の原因となることが知られつつある。最近のエピジェネティックス制御薬 (5-アザシチジンやポリノスタット) が抗がん剤として認可されたことから明らかなように、エピジェネティックスの制御は、重要な創薬ターゲットの一つである。

2. 研究の目的

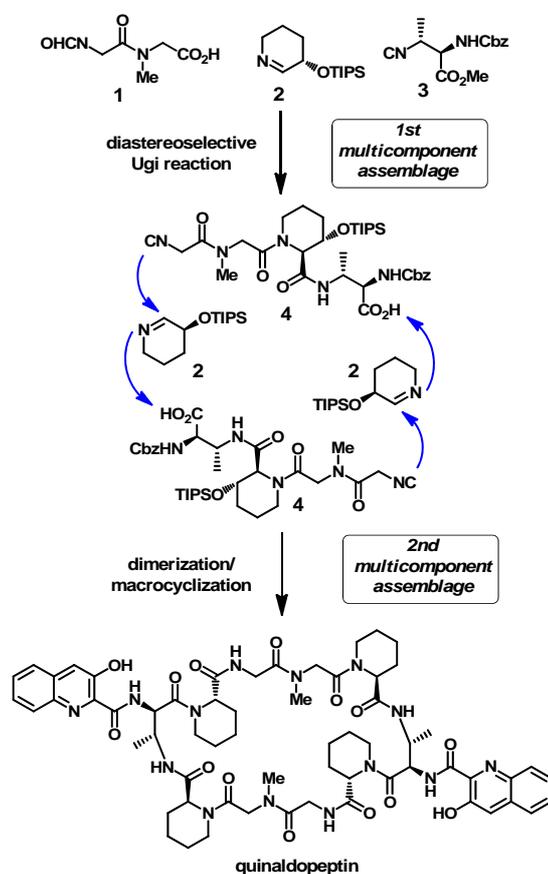
本研究は、新規なエピジェネティックス制御剤の開発を目的として、アセチル基やメチル基等の供与能を有する DNA 結合分子を開発し、その積極的なヒストン修飾活性や細胞増殖に与える影響を調べる。本研究を通して、エピジェネティックス研究における有用な新規ケミカルツールの開発と、最終的にはエピジェネティックス制御にもとづく新規抗がん剤シードの開発を目指す。すでに 2 本鎖 DNA にビスインターカレーション様式で結合する抗がん活性天然物の合成研究を行ってきた (*J. Am. Chem. Soc.* 2000, 122, 2956, 2001, 123, 561.)。これらの天然物に、アセチル基やメチル基の供与能を付与することで、DNA 近傍に存在するヒストンのリシン残基を化学修飾できると考えた。

3. 研究の方法

天然物であるキナルドペプチンを基盤としたヒストン化学修飾分子を合成することとし、Ugi 多成分反応を最大限に利用した超効率的な全合成経路を確立する。さらにアセチル基供与能 (アセチルチオアルキル基) やメチル基供与能 (ジメチルチオアルキル基) を有する側鎖を導入した、低分子ヒストン化学修飾剤を合成する。合成した化合物の DNA に対する結合能や配列選択性を明らかにするとともに、質量分析や、同位体標識体実験により、ヒストンへのアセチル・メチル基の供与能を評価する。細胞レベルでのヒストンの化学修飾能や各種癌細胞に対する *in vitro* 殺細胞活性評価を行う。各種活性や機能の向上・改良を目指した分子設計と合成を繰り返すことで、新規抗がん剤シードを見出す。

4. 研究成果

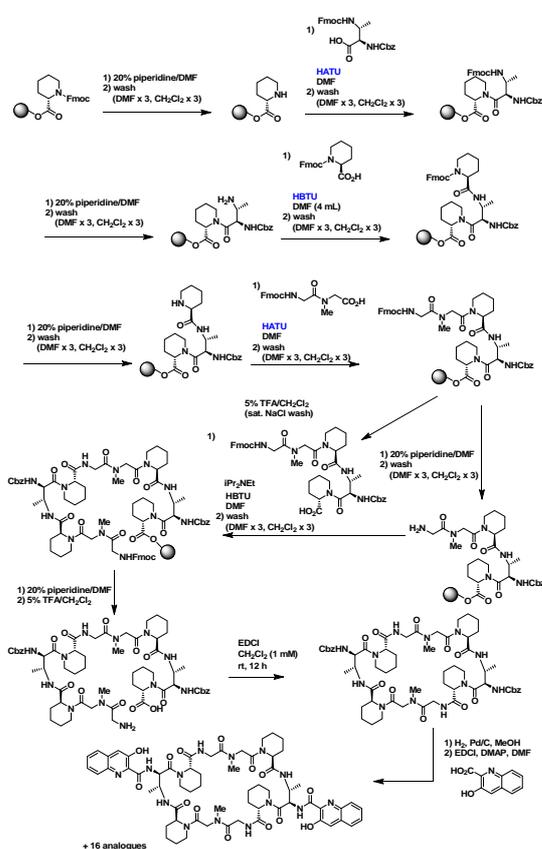
まず、優れた細胞透過能と DNA ビスインターカレーター能を有する環状ペプチド系天然物であるキナルドペプチンを母骨格とした誘導体の合成を行った (Scheme 1)。まず、



Scheme 1. キナルドペプチンの合成研究

Ugi 多成分反応のメリットを最大限に利用したキナルドペプチンの全合成経路の検討を行った。グリシルサルコシンと、3 位に不斉中心を有する 5 員環状イミン、ジアミノブタン酸から調製したイソニトリルによるジアステレオ選択的な Ugi 多成分反応 (3 成分 3 分子反応) を行いテトラペプチドを得た。これをイソシアノカルボン酸に変換した後、2 度目の Ugi 多成分反応 (2 成分 4 分子反応) により、2 量化とマクロ環化反応を検討した。その結果痕跡量ではあるが、目的とする環状デカペプチドを得ることができた。併行して、固相合成法によるキナルドペプチン誘導体の合成も行った。環状ペプチド部のアミノ酸残基を変換した誘導体 16 個を合成し (Scheme 2)、その DNA 結合能と *in vitro* ヒトがん細胞増殖抑制活性を評価した。その中で、天然物と同等の活性を有する誘導体を見出す事ができた。

さらに類縁天然物であるトリオスチン A とエチノマイシン (Figure 1) の全合成にも着手し、双方向型の伸張経路により、短行程でトリオスチン A の全合成を達成した。本経路は、多彩な誘導体合成に適した合成法である。本経路を用いる事で、6 個の誘導体を合成した。各種ヒトがん細胞に対する増殖抑制活性を評価したところ、nM オーダーの IC50 値を示す化合物を見出す事ができた。この時点で、ヒストンへのアセチル・メチル基の供与能を評価よりも、*in vivo* 薬効評価を行う事を優先することとし、2 つの化合物の、ヒト腎臓が



Scheme 2. キナルドペプチンの固相合成

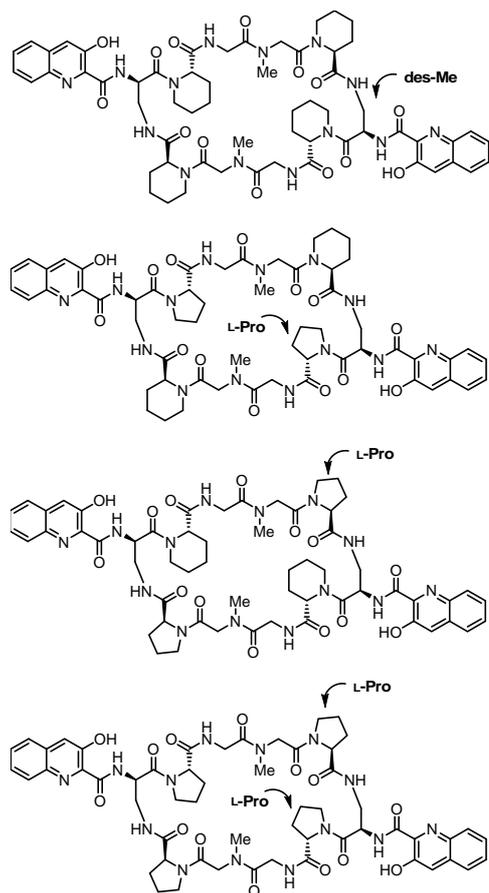


Figure 1. キナルドペプチン誘導体の構造
ん細胞 (MiaPaca) 皮下移植マウスモデルを用

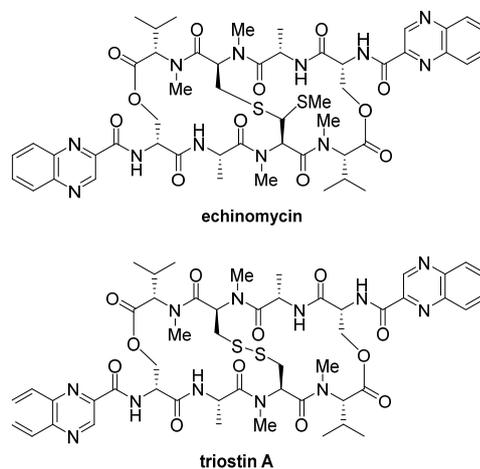


Figure 2. Echinomycin と triostin A の構造

いた *in vivo* 抗がん活性を評価した。その結果 200 ng/k g の低用量でも薬効を示すことが明らかとなった。新規抗がん剤のシーズを見出す事が出来たと言える。本化合物のエピジェネティックス調節能は現在評価中である。

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4件)

千葉拓也、仲谷岳志、片山勝史、松田彰、市川聡、多成分反応を用いた天然物合成と構造活性相関研究、有機合成化学協会誌、2016, 74, 426-440、査読有、DOI: 10.5059/yukigoseikyokaishi.74.426.

Nakaya, Takeshi; Matsuda, Akira; Ichikawa, Satoshi, Design, synthesis and biological evaluation of 5-C-piperidinyl-5-O-aminoribosyluridines as a potential antibacterial agent. *Org. Biomol. Chem.* 2015, 14, 7720-7735. 査読有, DOI: 10.1039/c5ob01037c

Chiba, Takuya; Matsuda, Akira; Ichikawa, Satoshi, Structure and activity relationship study of syringolin A as a potential anticancer agent. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2015, 25, 4872-4877. 査読有, DOI: 10.1016/j.bmcl.2015.06.015

Ichikawa, Satoshi; Yamaguchi, Mayumi; Hsuan, Lee Shang; Kato, Yuta; Matsuda, Akira. Carbaprazamycins: chemically stable analogues of the caprazamycin nucleoside antibiotics, *ACS Infect. Dis.* 2015, 1, 151-156. 査読有, DOI: 10.1021/id5000376

〔学会発表〕(計3件)

小嶋 啓太、市川 聡、Echinomycinの合成研究、日本薬学会北海道支部143回例会、2016年05月14日～2016年05月15日、札幌コンベンションセンター(北海道札幌市)内海翔平、佐藤浩輔、市川聡、エビジェネティック制御を指向した非環式C-ヌクレオシドの合成と性質、日本薬学会第136年会(口頭発表)、2016年03月29日～2016年03月29日、パシフィコ横浜(神奈川県・横浜市)

Nakaya, T.; Matsuda, A.; Ichikawa, S., Design and synthesis of simplified caprazamycin analogs. PACIFICHEM, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, 2015年12月15日～2015年12月15日, Honolulu (Hawaii, USA)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0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0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

<http://japanese-apricot.pharm.hokudai.ac.jp/gous-eiiyaku/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

市川 聡 (ICHIKAWA, Satoshi)
北海道大学・大学院薬学研究院・教授

研究者番号：60333621

(2)研究分担者
なし

(3)連携研究者
なし

(4)研究協力者
なし