

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2006～2009

課題番号：18201042

研究課題名（和文） 分子標的抗がん剤創製を指向した天然活性物質の探索

研究課題名（英文） **Search for Bioactive Natural Products for
Molecular Target Chemotherapy of Cancer**

研究代表者

小林 資正（KOBAYASHI MOTOMASA）

大阪大学・大学院薬学研究科・教授

研究者番号：40116033

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学

キーワード：海洋生物、分子標的、海綿、血管新生、活性試験、抗がん剤

1. 研究計画の概要

本研究は、副作用が少ない新しい抗がん剤シーズの創製を目的に、最新の分子生物学的知見に基づいたスクリーニング法を用いて、がん細胞特異的な因子に選択的に作用する活性天然物を、薬用植物の抽出エキス、海綿類を中心とする海洋生物の抽出エキスや海洋由来微生物の培養物ライブラリーから探索する。発見した活性物質の抗腫瘍作用を *in vitro* および *in vivo* モデル系で評価し、有望な微量活性物質については、全合成による供給を検討する。また、モデル化合物合成による構造活性相関の解析、より簡便に合成できる活性類縁体の合成等の合成化学的な検討を加え、新たな分子標的抗がん剤としての展開を図る。さらに、得られた活性物質を用いるケミカルバイオロジー研究により、その標的分子を明らかにし、制がんに関わる新規薬剤ターゲットの開拓を目指す。

2. 研究の進捗状況

研究代表者らは、p21 プロモータ活性化物質（がん細胞特異的細胞周期阻害）、分化誘導物質、血管新生阻害物質などの探索研究を行うとともに、2008 年度からは、がん転移抑制物質および低酸素環境特異的細胞毒性物質（腫瘍特異的微小環境で作用する抗がん剤）を探索する新しい評価系を構築し、スクリーニングを開始している。

これまでに p21 プロモータ活性化物質として、インド・アーユルヴェーダ生薬から cryptolepine を見出し、詳細な作用メカニズムの解析を実施した。また血管新生阻害物

質として、大環状プロモチロシン誘導体 bastadin 類、新規イソマラバリカン型トリテルペン globostellatic acid X methyl ester 類や新規ステロイドアルカロイド cortistatin 類を見出し、*in vitro* または *in vivo* モデル系での活性評価、全合成やモデル化合物合成、標的分子の解析を実施している。特に bastadin 類と cortistatin 類に関しては、以下に示す知見を得ている。

（1）bastadin 類 主活性成分 bastadin 6 は、血管新生促進因子によって誘発されるヒト臍帯静脈血管内皮細胞（HUVEC）の遊走や管腔形成を阻害するとともに、マウス角膜を用いた *in vivo* 試験で血管新生を阻害し、腫瘍移植モデルマウスに対して抗腫瘍効果を示した。効率的な全合成法（9 工程、総収率 28%）を確立するとともに、構造活性相関を明らかにするため、種々のアナログ化合物を合成して活性評価を行った結果、分子全体のコンホメーションが活性発現に重要であることを明らかにした。

（2）cortistatin 類 4 種の活性物質の他にこれまでに 7 種の微量類縁体を見出し、それらの構造活性相関から、側鎖のイソキノリン環と A 環の官能基が HUVEC 選択的増殖阻害に重要であることを明らかにした。最も強い活性を有する cortistatin A は、他のがん細胞と比較して、3000 倍以上の HUVEC 選択的増殖阻害 ($IC_{50} = 1.8 \text{ nM}$) を示す他、濃度依存的に HUVEC の遊走を阻害した。さらに cortistatin A の合成研究を展開し、すでに CD 環フラグメントの立体選択的合成に成功するとともに、各種アナログ化合物の合成による構造活性相関研究を進めている。

この他、先に見出している非常に強力な

細胞毒性 (IC₅₀ 5pg/ml) を示す微量抗腫瘍物質 arenastatin A の選択的合成法の開発と、アナログ合成による構造活性相関の解析を行った。

3. 現在までの達成度

②おおむね順調に進展している。

(理由)

研究計画通り、最新の分子生物学の知見を基に、新たな活性試験法を常に構築し、分子標的抗がん剤創製のための探索研究を実施している。またこれまでに、前述の化合物を含め 8 種の化合物について、*in vitro* または *in vivo* での活性評価、作用メカニズム解析、構造活性相関、全合成またはモデル化合物合成などを実施し着実に成果を上げている。

4. 今後の研究の推進方策

血管新生阻害物質、がん転移阻害物質および低酸素環境特異的細胞毒性物質の探索を中心に、新規活性物質を探索する。また現在見出している活性物質については合成化学的な検討を加え、医薬シーズとしての可能性を探るとともに、ケミカルバイオロジーの手法により、その標的分子を明らかにする。

特に cortistatin A については、これまでの成果を基盤に全合成の達成を目指す。またモデル化合物合成による構造活性相関研究を行い、医薬シーズとしての展開を図る。

環状プロモチロシン誘導体 bastadin 6 については、プローブ分子を作成し、結合タンパク質を明らかにすることによりその作用メカニズム解析を行う。

5. 代表的な研究成果

(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 21 件)

1) Kotoku, N.; Sumii, Y.; Hayashi, T.; Kobayashi, M. Synthesis of CD-ring structure of cortistatin A, an anti-angiogenic steroidal alkaloid from marine sponge. *Tetrahed. Lett.*, **49**, 7078-7081 (2008) 査読有り

2) Kotoku, N.; Hiramatsu, A.; Tsujita, H.; Hirakawa, Y.; Sanagawa, M.; Aoki, S.; Kobayashi, M. Structure-activity relationships study of bastadin 6, an anti-angiogenic brominated-tyrosine derived metabolite from marine sponge. *Arch. Pharm. (Weinheim)*, **341**, 568-577 (2008) 査読有り

3) Kotoku, N.; Tamada, N.; Hayashi, A.;

Kobayashi, M. Synthesis of BC-ring model of globostellatic acid X methyl ester, an anti-angiogenic substance from marine sponge. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 3532-3535 (2008) 査読有り

4) Aoki, S.; Watanabe, Y.; Tanabe, D.; Arai, M.; Suna, H.; Miyamoto, K.; Tsujibo, H.; Tsujikawa, K.; Yamamoto, H.; Kobayashi, M. Structure-activity relationship and biological property of cortistatins, anti-angiogenic spongian steroidal alkaloids. *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 6758-6762 (2007) 査読有り

5) Aoki, S.; Sanagawa, M.; Watanabe, Y.; Setiawan, A.; Arai, M.; Kobayashi, M. Novel isomarambarican triterpenes, exhibiting selective anti-proliferative activity against vascular endothelial cells, from marine sponge *Rhabdastrella globostellata*. *Bioorg. Med. Chem.*, **15**, 4818-4828 (2007) 査読有り

6) Aoki, S.; Watanabe, Y.; Sanagawa, M.; Setiawan, A.; Kotoku, N.; Kobayashi, M. Cortistatin A, B, C, and D, anti-angiogenic steroidal alkaloids, from the marine sponge *Corticium simplex*. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 3148-3149 (2006) 査読有り

[学会発表] (計 45 件)

1) 小林資正 Bioactive metabolites from marine sponges and marine microorganisms (Gordon Research Conference, 2008 年 2 月 24 日、米国) (招待講演)

2) 荒井雅吉 海洋由来新規ステロイドアルカロイド cortistatin 類の血管新生阻害作用と構造活性相関 (第 12 回がん分子標的治療研究会総会、2008 年 6 月 27 日、東京)

3) 古徳直之 海綿由来血管新生阻害物質 globostellatic acid X methyl ester の構造活性相関 (第 17 回天然薬物の開発と応用シンポジウム、2008 年 11 月 14 日、福岡)

4) 古徳直之 Synthetic studies of bastadin 6, an anti-angiogenic substance from marine sponge. (IUPAC International Conference on Biodiversity and Natural Products, 2006 年 7 月 24 日、京都)

[図書] (計 2 件)

小林資正 共著, (株)アイピーシー, 天然物化学 -海洋生物編-, 2008 年, P228-P242

[その他]

ホームページ <http://www.phs.osaka-u.ac.jp/homepage/b012/>