

機関番号：14401

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790113

研究課題名 (和文) 抗がんリード創出を指向するハイブリッド型アセトゲニン類の構造活性相関研究

研究課題名 (英文) Synthesis and biological evaluation of hybrid acetogenins for the discovery of novel antitumor agents

研究代表者

小島 直人 (KOJIMA NAOTO)

大阪大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号：90420413

研究成果の概要 (和文)：

新規抗がんリード化合物の創出を目指して、熱帯・亜熱帯産のバンレイシ科植物から単離されるポリケチドであるバンレイシ科アセトゲニン類由来のテトラヒドロフラン環部位と呼吸鎖阻害系殺虫剤由来の含窒素複素環を結合させたハイブリッド型アセトゲニン類の構造活性相関研究を行なった。その結果、両者の結合部位が活性向上に大きな影響を与えることを見出し、特に *N*-メチルピラゾール環をアミド結合を介してテトラヒドロフラン環に結合させた誘導体は天然物の1万倍以上の強いヒトがん細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。

研究成果の概要 (英文)：

A series of  $\alpha, \beta$ -unsaturated- $\gamma$ -lactone-free nitrogen-containing heterocyclic analogues of solamin, a natural mono-THF acetogenin, have been synthesized and their cytotoxicity was investigated against 39 tumor cell lines. One of synthetic analogues, 1-methylpyrazol-5-yl derivative connected to THF moiety via an amide bond, exhibited approximately 10000 times higher cytotoxicity against HCT116, human colon cancer, than natural solamin.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2010年度	1,600,000	480,000	2,080,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：創薬化学

科研費の分科・細目：創薬化学

キーワード：抗がん剤開発、構造活性相関、有機合成化学

## 1. 研究開始当初の背景

日本人の死因の第一位を占める「がん」の治療法として、抗がん剤を用いる化学療法は古くから実用化されているが、正常な細胞と元は正常な細胞であったがん細胞とを薬剤に区別させることは困難であり、しばしば重篤な副作用が見られることが大きな問題点の一つである。近年、がん細胞に特異的に存在する酵素などを標的とする分子標的治療薬の開発により、これらの問題は一部解決さ

れつつあるが、有効な薬剤の存在しないがん細胞が多数あることから、新規な作用機序を有する薬剤の開発は極めて重要な研究課題である。

バンレイシ科アセトゲニン類とは、熱帯・亜熱帯産のバンレイシ科植物より単離される抗腫瘍活性を示すポリケチドのことであり、ミトコンドリアの呼吸鎖電子伝達系を阻害することにより活性を発現するものと考えられている。その構造的特徴としては長鎖

脂肪鎖の中央付近に1から3個のテトラヒドロフラン (THF) 環、片方の末端に  $\alpha$ ,  $\beta$ -不飽和- $\gamma$ -ラクトン環を有することが挙げられる。これらはアドリマイシンを凌駕する強力な活性を有することから注目を集めてきたが、主に毒性などの点から、抗がん剤としての実用化には至っていない。

一方、農業分野において、呼吸鎖阻害系殺虫剤と呼ばれる化合物群が存在する。これらはいずれも脂溶性側鎖を有する含窒素複素環からなる。アセトゲニン類の構造を複素環 ( $\gamma$ -ラクトン環) に脂溶性アルキル鎖が伸びたものであると考え、呼吸阻害系殺虫剤と構造に類似性があると考えられる。そこで、研究代表者はアセトゲニン類の  $\gamma$ -ラクトン環を呼吸鎖阻害系殺虫剤由来の含窒素複素環に置換したハイブリッド型分子は新規な呼吸鎖複合体 I 阻害剤、さらには新規抗腫瘍活性物質となる可能性があるのではないかと考えた。

## 2. 研究の目的

本研究では、ハイブリッド型アセトゲニン類の構造活性相関研究を展開することにより、新規な抗がんリード化合物を創製することを目的としている。

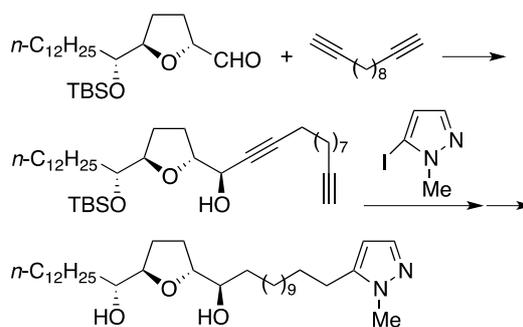
## 3. 研究の方法

研究代表者らは以前に、バンレイシ科アセトゲニン類の全合成研究に取り組み、その構造的な特徴の一つであるポリテトラヒドロフラン骨格の系統的な不斉合成法を既に確立している。そこで本研究では、本法を応用してハイブリッド型アセトゲニン類を化学合成する。また、合成した誘導体のヒトがん細胞に対する増殖抑制活性を評価することにより、新規抗がんリード化合物と成り得る化合物を探索する。

## 4. 研究成果

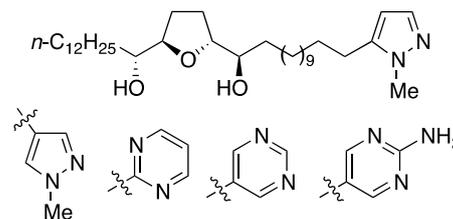
### (1) ハイブリッド型アセトゲニン類の汎用的な合成法の確立

ハイブリッド型アセトゲニン類の構造活性相関研究を進めるにあたり、まず、汎用的な合成法の開発に着手した。THF 環部位に関しては、我々が既に開発している THF 環骨格の系統的な不斉合成法を用いることにし、それにリンカー部位と複素環部位を結合させて合成することを計画した。検討の結果、複素環部位の構造活性相関研究に有利となる、複素環を最終段階で結合させる合成経路の確立に成功した。



### (2) 含窒素複素環を有するハイブリッド型アセトゲニン類の構造活性相関

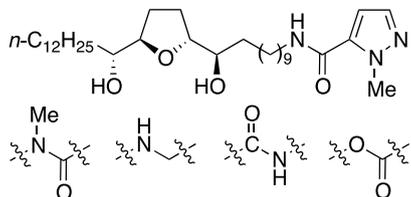
確立した合成経路を用いて、呼吸鎖阻害系農薬の母核であるピラゾール環またはピリミジン環を THF 環部位と結合させた5種のハイブリッド型アセトゲニンを合成した。それらの39種類のヒトがん細胞に対する細胞増殖阻害活性を評価した結果、いずれの誘導体も天然物と同等あるいはより強い活性を示し、含窒素複素環が  $\gamma$ -ラクトン環の代わりになることが明らかになった。また、ピラゾール環を導入した誘導体は、数種のがん細胞に対する増殖阻害活性が選択的に増強される興味深い生物活性を有することを見出した。



### (3) THF 環と複素環部位の結合部位に関する構造活性相関

前述の誘導体は両者を炭素-炭素単結合にて連結していたが、呼吸鎖阻害系殺虫剤の含窒素複素環はアミド結合により脂溶性側鎖と結合している。そこで、興味深い生物活性を有するハイブリッド型アセトゲニンの更なる活性向上を目指す誘導体展開として、複素環と THF 環部位に繋がるアルキル鎖の結合部位の構造活性相関研究を計画した。前述のハイブリッド型アセトゲニンの汎用的な合成法を応用し、アミド結合を含む様々な結合形式で連結されたハイブリッド型アセトゲニン類の合成を行った。それらのヒトがん細胞に対する増殖阻害活性評価の結果、連結部位の結合様式は生物活性に顕著な変化をもたらすことが明らかになった。中でも、*N*-メチルアミドで連結した誘導体では強い活性向上を見られ、例えば、ヒト乳がん細胞 BSY-1 に対しては、天然物の200倍以上の活性を有することが明らかになった。また、アミド結合で連結した誘導体は更に強力な活性を示

し、同じがん細胞に対して天然物の 10000 倍以上の増殖抑制活性を示すことを見出した。これらの結果から、アセトゲニン類の  $\gamma$ -ラクトン環を呼吸鎖阻害系殺虫剤の含窒素複素環に置換したハイブリッド型アセトゲニン類は、新規抗がん剤のリード化合物として極めて高い潜在能力を有することが明らかになった。



## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 4 件)

(1) Naoto Kojima, Takekuni Morioka, Masahiro Yano, Yuki Suga, Naoyoshi Maezaki, Tetsuaki Tanaka, Convergent Synthesis of Fluorescence Labeled Solamin, *Heterocycles*, **79**, 387-393, 2009, 査読あり.

(2) Naoto Kojima, Tetsuaki Tanaka, Medicinal Chemistry of Annonaceous Acetogenins: Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel Analogues, *Molecules (invited review)*, **14**, 3621-3661, 2009, 査読あり.

(3) Naoto Kojima, Shogo Nishijima, Tetsuaki Tanaka, One-Pot, Three-Component Synthesis of Chiral 4-Alkylidene-2-oxazolidinones, *Synlett*, 3171-3174, 2009, 査読あり.

(4) Naoto Kojima, Takekuni Morioka, Daisuke Urabe, Masahiro Yano, Yuki Suga, Naoyoshi Maezaki, Ayako Ohhashi-Kobayashi, Yasuyuki Fujimoto, Masatomo Maeda, Takao Yamori, Takehiko Yoshimitsu, Tetsuaki Tanaka, Convergent Synthesis of Fluorescence-Labeled Probes of Annonaceous Acetogenins and Visualization of Their Cell Distribution, *Bioorg. Med. Chem.*, **18**, 8630-8641, 2010, 査読あり.

[学会発表] (計 14 件)

(1) 小島 直人, 西島 尚吾, 柘植 薫, 田中 徹明, プロビオレートを求核剤とするアルデヒドの不斉アルキニル化反応, 日本薬学会第 131 年会 (2011 年 3 月 31 日、静岡).

(2) 小島 直人, 戸田 雄也, 伏見 哲也, 立川 貴啓, 矢守 隆夫, 前崎 直容, 田中 徹明, 含窒素複素環導入アセトゲニン類の構造活性相関研究: THF 環と含窒素複素環の結合様式の検討, 日本薬学会第 131 年会 (2011 年 3 月 31 日、静岡).

(3) 柘植 薫, 西島 尚吾, 小島 直人, 田中 徹明, プロビオレートを求核剤とするアルデヒドの不斉アルキニル化反応, 第 30 回有機合成若手セミナー (2010 年 11 月 10 日、大阪).

(4) 戸田 雄也, 伏見 哲也, 立川 貴啓, 前崎 直容, 矢守 隆夫, 小島 直人, 田中 徹明, 含窒素複素環導入アセトゲニン類の構造活性相関研究: THF 環と含窒素複素環の結合様式の検討, 第 30 回有機合成若手セミナー (2010 年 11 月 10 日、大阪).

(5) 小島 直人, 伏見 哲也, 立川 貴啓, 横島 弘宜, 戸田 雄也, 前崎 直容, 矢守 隆夫, 田中 徹明, 含窒素複素環を有するアセトゲニン類縁体の合成とがん細胞増殖抑制活性の評価, 第 36 回反応と合成の進歩シンポジウム (2010 年 11 月 2 日、愛知).

(6) 小島 直人, 柘植 薫, 西島 尚吾, 田中 徹明, プロビオレートを求核剤とするアルデヒドの不斉アルキニル化反応, 第 60 回日本薬学会近畿支部大会 (2010 年 10 月 30 日、大阪).

(7) 小島 直人, 戸田 雄也, 伏見 哲也, 立川 貴啓, 前崎 直容, 矢守 隆夫, 田中 徹明, 含窒素複素環導入アセトゲニン類の構造活性相関研究: THF 環と含窒素複素環の結合様式の検討, 第 60 回日本薬学会近畿支部大会 (2010 年 10 月 30 日、大阪).

(8) 小島 直人, 伏見 哲也, 立川 貴啓, 横島 弘宜, 戸田 雄也, 前崎 直容, 矢守 隆夫, 田中 徹明, 複素環導入アセトゲニン類縁体の合成とがん細胞増殖抑制活性の評価, 第 40 回複素環化学討論会 (2010 年 10 月 14 日、宮城).

(9) 小島 直人, 抗腫瘍活性バンレイシ科アセトゲニン類をリードとする新規抗腫瘍活性物質の創製, 第 1 回 Cancer Cell Informatics による創薬研究会 (2010 年 9 月 14 日、東京).

(10) Naoto Kojima, Yuki Suga, Hiromi Hayashi, Satoshi Suzuki, Tetsuaki Tanaka, Design, synthesis and biological evaluation of fluorinated analogues of

Annonaceous acetogenins, Eleventh Tetrahedron Symposium (2010年6月23日、Beijing, China).

(11) Naoto Kojima, Tetsuya Fushimi, Takahiro Tatsukawa, Tetsuaki Tanaka, Synthesis of heterocyclic analogues of acetogenins and their growth inhibitory activity against human cancer cell lines, Eleventh Tetrahedron Symposium (2010年6月23日、Beijing, China).

(12) Naoto Kojima, Shogo Nishijima, Tetsuaki Tanaka, One-pot, three-component synthesis of chiral 4-alkylidene-2-oxazolidinones, Eleventh Tetrahedron Symposium (2010年6月22日、Beijing, China).

(13) Shogo Nishijima, Naoto Kojima, Tetsuaki Tanaka, One-pot, three-component synthesis of chiral 4-alkylidene-2-oxazolidinones, The 5th Seoul-Kyoto-Osaka Joint Symposium on Pharmaceutical Sciences for Young Scientists (2010年5月20日、大阪).

(14) 伏見 哲也, 立川 貴啓, 横島 弘宜, 小島 直人, 田中 徹明, 種々の含窒素複素環を有するアセトゲニン類縁体の合成とヒト癌細胞増殖抑制活性の評価, 第29回有機合成若手セミナー (2009年11月24日、甲南大学).

[その他]

学会での研究発表が評価され、以下の賞を受賞した。

(1) 第29回有機合成若手セミナー優秀研究発表賞, C-35 フッ素化アセトゲニン類の合成と癌細胞に対する増殖抑制活性評価

(2) The Excellent Poster Award of 11th Tetrahedron Symposium, Design, synthesis and biological evaluation of fluorinated analogues of Annonaceous acetogenins

(3) 第40回複素環化学討論会最優秀ポスター賞, 複素環導入アセトゲニン類縁体の合成とがん細胞増殖抑制活性の評価

(4) 第30回有機合成若手セミナー優秀研究発表賞, プロピオレートを求核剤とするアルデヒドの不斉アルキニル化反応

日本薬学会第131年会にて発表した演題が講演ハイライトに選出された。

(1) プロピオレートを求核剤とするアルデヒドの不斉アルキニル化反応

(2) 含窒素複素環導入アセトゲニン類の構造活性相関研究: THF環と含窒素複素環の結合様式の検討

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小島 直人 (KOJIMA NAOTO)

大阪大学・大学院薬学研究科・助教

研究者番号: 90420413