

有機合成化学を基盤とする創薬研究

－新規合成薬によるアポトーシス誘導と酸化ストレス－

富山大学大学院医学薬学研究部（薬学）

松谷 裕二

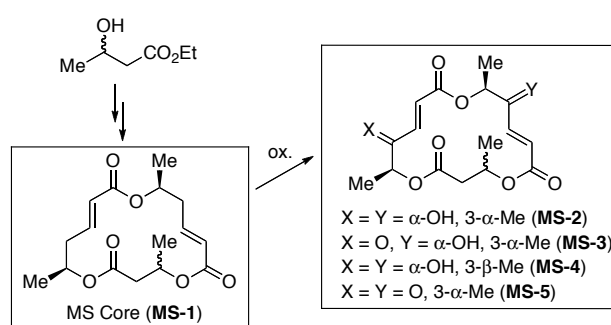
はじめに

現在使用されている医薬品の大部分は有機化合物であり、またその半分以上は天然資源に由来する化合物、いわゆる天然物やそれをリードとして創製された化合物である。その意味で天然物は新薬創出のためのヒントを与えてくれる宝庫であり、天然有機化合物やその類縁体を自在に「合成」、「変換」、「供給」するための有機合成化学の力量は、創薬研究の重要な基盤の一つといえる。特に、生理活性天然物を基盤とした分子設計による新薬シーズ探索は有用な創薬アプローチであり、設計分子の化学合成による効率的供給がその成否の鍵を握っている。私たちの研究室ではこのような考えから、いわゆる「“Non-natural” natural product 戦略」に基づいた創薬研究を数年来展開してきた。その中で最近、マクロライド系天然物である「マクロスフェライド (MS)」が、細胞内酸化ストレスに起因するアポトーシスを誘発することが判り、レドックス制御による新規抗癌性医薬品の有用なリードとなる可能性を見出した。本講演では、天然マクロスフェライド類を基盤とした人工分子設計による新薬シーズ探索の経緯について、有機合成戦略の解説を絡めながら紹介したい。

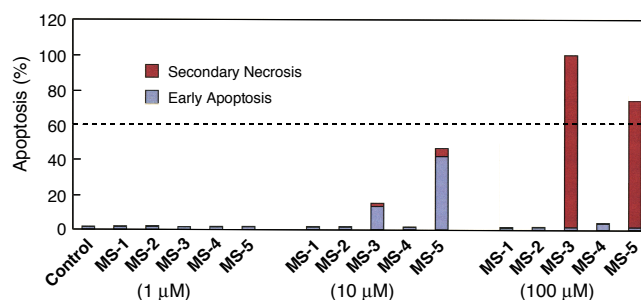
(1) マクロスフェライドコア骨格の酸化誘導体化と ROS 産生によるアポトーシス誘導

天然型マクロスフェライド類の活性スクリーニングを行うにあたり、高効率かつ多様な誘導体供給を可能とする合成戦略が重要となる。ここでは、マクロスフェライド類が共通して有する単純 16 員環コア骨格 (MS Core) の合成と、それらのアリル位酸化による様々な酸化状態および立体化学を持つ誘導体合成を行った。

本合成法により、天然物であるマクロスフェライド A、B、および E (それぞれ MS-2, 3, 4 に対応) を含む、多様な誘導体合成を達成することができた。その中で、右図に掲げる 5 種の誘導体 (MS-1 から MS-5) についてヒトリンパ腫細胞 (U937) のアポトーシス誘導活性評価を行った結果を示す。10 μM 濃度において、MS-5 (および MS-3) に顕著な活性が認められた。本化合物群により誘起されるアポトーシスシグナル伝達経路を特定するため、いくつかの実験を行った結果、Fas 活性化、caspase-3 および caspase-8 の活性化、ミトコンドリア膜電位の低下、細胞内カルシウムイオン濃度増大等が観察された。またこれらに先行して、細胞内 ROS の一過性の増大が認められ、本薬



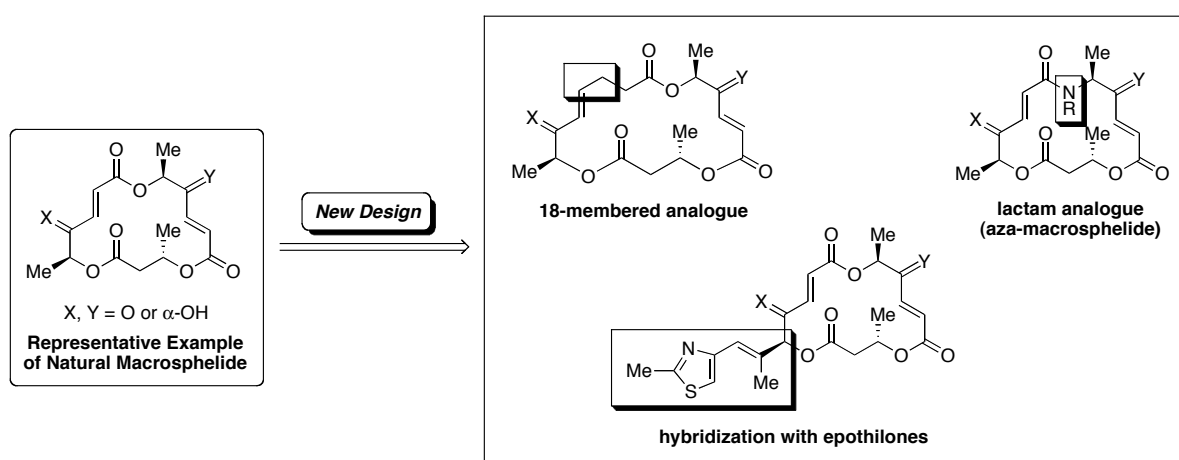
Apoptosis-inducing activity (Human Lymphoma U937 Cells)



剤が細胞内酸化ストレス誘発に関与していることが示された。更にこれらの応答は、全て抗酸化剤 NAC (*N*-acetyl-L-cysteine) によって阻害されるという結果が得られた。これらの結果から、マクロスフェライド類が示すアポトーシス誘導活性は、一過性の ROS 増大が引き金となった Fas/caspase ミトコンドリア経路の活性化とカルシウムイオン依存経路が関与しているものと考えられる。また、類似した機構にて、**MS-5** が温熱誘発アポトーシスの効果的な増感剤となることも明らかとなった。

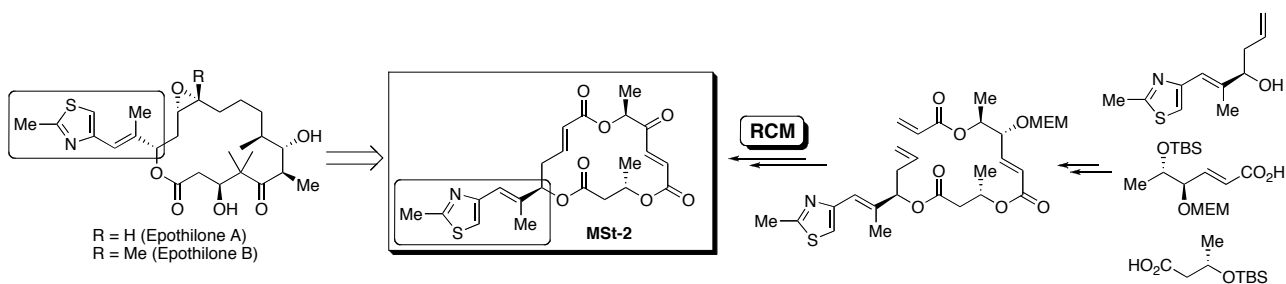
(2) マクロスフェライド構造に基づいた人工分子設計とアポトーシス誘導活性の増強

生理活性天然物の基本骨格や部分構造の化学修飾は、新規医薬品探索の有効な手段である。私たちは、マクロスフェライドの有するアポトーシス誘導剤としての潜在能力に着目し、いくつかの分子設計と化学合成に着手した。下図に示す通り、1) 環員数の異なる設計分子、2) エポチロンとのハイブリッド化合物、3) ラクタムアナログの設計、の3つのアプローチを検討した。

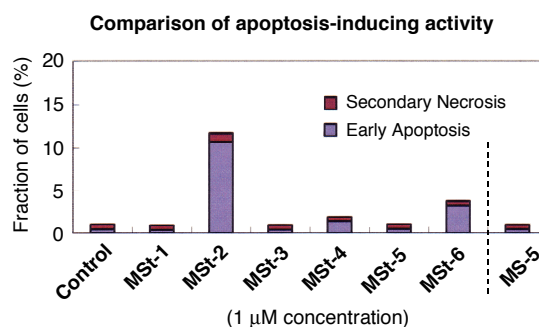


これらの設計分子合成にあたっては、天然型コア骨格とは異なる基本骨格や側鎖を有していることから、一般性が高く官能基共存性に優れた合成手法を選択する必要がある。ここで我々は、マクロ環構築の方法として、閉環メタセシス法 (Ring-Closing Metathesis, RCM) を用いることにした。18員環型アナログおよびラクタムアナログについて、RCM を合成の鍵工程として利用し、それぞれ効率の良い合成経路を開拓することに成功した。生物活性については、18員環型アナログでは残念ながら活性の増強は認められず、ラクタムアナログについては今後詳細な検討を実施予定である。一方、エポチロンとのハイブリッド化合物については、活性試験にて良好な結果が得られたので、以下それらの合成と生物活性について簡単に述べる。

エポチロン類は、マクロスフェライド類と同じく16員環マクロライド骨格を有する天然物であり、強力な抗腫瘍活性とアポトーシス誘導活性を示すことが知られている。その特徴的構造の1つにチアゾール側鎖が挙げられ、これは活性発現に重要な役割を担っていることが示唆されている。そこで、マクロスフェライドのコア骨格にチアゾール側鎖を組み込んだハイブリッド化合物を設計して、アポトーシス誘導活性の増強効果を期待することにした。一例として、ハイブリッド (**MSt-2**) の合成について次式に示す。3つのキラルパーツを順次連結して RCM 前駆物質を合成し、次いでルテニウム触媒を利用した RCM により、目的とする16員環マクロスフェライド骨格の構築に成功した。本合成経路に準じて、6種のハイブリッド化合物 (**MSt-1** から **MSt-6**) の合成を行い、それらの U937 細胞に対するアポトーシス誘導活性を **MS-5** と比較した。



その結果、右図に示す通り、いくつかのハイブリッド化合物で活性の増強が認められ、特に **MSt-2** が最も高い活性を示した。またリンパ腫細胞に加えて、ヒト結腸癌細胞 (HCT116) や胃癌細胞に対しても、アポトーシス誘導と増殖阻害を示すことが明らかとなった。**MSt-2** においても、**MS-5** と同様に細胞内 ROS 産生の増大が観察され、これは NAC により阻害された。アポトーシス誘導のシグナル伝達に関しては **MS-5** と類似しているものと考えられるが、チアゾール側鎖の効果に関する分子機構についてはまだ不明であり、今後の検討課題である。



まとめ

天然物マクロスフェライドが誘起する一過性の細胞内酸化ストレスにより、腫瘍細胞のアポトーシス細胞死が誘導されるという知見を得て、これを基にした“Non-natural” natural product の合成と活性増強について述べてきた。これらマクロスフェライド誘導体は、新たなレドックス制御薬剤として新薬開発のシーズとなることが期待される。創薬プロセスにおける有機合成化学の最大の意義は、絵に描いた創りたい分子を自在に創出することができる「ものづくりの力」であり、この力を最大限に生かしながら創薬に貢献していきたいと考えている。

謝辞

本研究を遂行するにあたり、終始ご指導頂きました富山大学大学院医学薬学研究部薬品製造学研究室の根本英雄教授、合成研究にご尽力頂きました全ての学生諸氏に感謝致します。また、生物活性評価研究を担当して頂きました、同放射線基礎医学講座の近藤 隆教授をはじめとする研究グループの皆様にご感謝申し上げます。

文献

- (1) Matsuya, Y.; Kawaguchi, T.; Nemoto, H.; Nozaki, H.; and Hamada, H. *Heterocycles* **2003**, *59*, 481-484.
- (2) Matsuya, Y.; Kawaguchi, T.; Nemoto, H. *Heterocycles* **2003**, *61*, 39-43.
- (3) Matsuya, Y.; Ishihara, K.; Funamori, N.; Kawaguchi, T.; Nemoto, H. *Heterocycles* **2003**, *61*, 59-63.
- (4) Matsuya, Y.; Kawaguchi, T.; Nemoto, H. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 2939-2941.
- (5) Kawaguchi, T.; Funamori, N.; Matsuya, Y.; Nemoto, H. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 505-509.
- (6) Ishihara, K.; Kawaguchi, T.; Matsuya, Y.; Sakurai, H.; Saiki, I.; Nemoto, H. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 3973-3978.
- (7) Matsuya, Y.; Kawaguchi, T.; Ishihara, K.; Ahmed, K.; Zhao, Q.-L.; Kondo, T.; Nemoto, H. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4609-4612.
- (8) Ahmed, K.; Zhao, Q.-L.; Matsuya, Y.; Yu, D.-Y.; Salunga, T. L.; Nemoto, H.; Kondo, T. *Int. J. Hyperthermia* **2007**, *23*, 353-361.
- (9) Ahmed, K.; Zhao, Q.-L.; Matsuya, Y.; Yu, D.-Y.; Feril, L. B., Jr.; Nemoto, H.; Kondo, T. *Chem. Biol. Interact.* **2007**, *170*, 86-99.
- (10) 総説 : Matsuya, Y.; Nemoto, H. *Heterocycles* **2005**, *65*, 1741-1749.