HOKKAIDO UNIVERSITY

| | |
|---|---|
| Title | 抗がん活性天然物サンドラマイシンの作用機序解明を指向した機能化誘導体の創製［論文内容及び審査の要旨］ |
| Author(s) | 駒谷, 優弥 |
| Degree Grantor | 北海道大学 |
| Degree Name | 博士(薬科学) |
| Dissertation Number | 甲第16290号 |
| Issue Date | 2025-03-25 |
| Doc URL | https://hdl.handle.net/2115/95330 |
| Rights(URL) | https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/ |
| Type | doctoral thesis |
| File Information | Yuya_Komatani_abstract.pdf, 論文内容の要旨 |

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

# 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称　博士(薬科学)　　氏 名　　駒 谷　　優 弥

## 学 位 論 文 題 名

抗がん活性天然物サンドラマイシンの作用機序解明を指向した機能化誘導体の創製

サンドラマイシン（SAD）は、強力な細胞増殖抑制活性を示す環状デプシペプチド天然物である。構造中の 2 つのクロモフォアが二本鎖 DNA の塩基対間に挿入し、DNA に結合する DNA ビスインターカレーターペプチドの一つである。近年では、欧米製薬企業により、抗体－薬物複合体のペイロードとしての応用が検討されており、新規抗がん剤リード化合物として期待される天然物である。その作用機序としては、DNA に結合することによる DNA 複製および転写の阻害であると想定されている。しかし、細胞内における DNA の結合と細胞増殖抑制活性の因果関係は明らかになっておらず、他の生体分子との相互作用が細胞増殖抑制活性に寄与している可能性は否定できないことから、作用標的分子の同定は、SAD の作用機序解明にあたり最重要課題である。また、SAD は分子量 1000 を超える中分子化合物である。中分子化合物は受動拡散による膜透過性の低さが一般に知られており、SAD がその活性発現にあたって細胞内へ移行しているか否かには、中分子ペプチドとしての性質に興味がもたれるだけでなく、作用標的分子の分布を知る手掛かりとなる重要な知見でもある。このような作用機序解析においては、対象化合物のプローブ化が必要であり、多種類のプローブにアクセス可能な合成法の確立は、作用機序解析の重要なステップである。以上の背景をふまえ、筆者は、柔軟な構造変換を可能とする SAD の合成法を確立し、SAD の作用機序解明に向けた機能化誘導体の合成と作用機序解析を行った。

まず、SAD の合成について、種々のアミノ酸変換体を簡便に合成するため、ペプチド固相合成法を利用することとした。誘導体合成を指向して、固相樹脂上でエステルを構築し、さらに $C_2$ 対称性を考慮して、ペンタデプシペプチド同士の[5+5]ペプチドカップリングにより、鎖状デカデプシペプチドとし、これをマクロラクタム化することで、SAD の環状ペプチド部分を合成した。最後に、クロモフォアを導入することで、SAD の合成を完了した。しかし、この第一世代固相合成法は、エステルの合成途中での切断や環化時のエピメリ化の課題があった。そこで、エステルを合成後期段階で構築する第二世代固相合成法を確立した。

確立した合成法を基に、誘導体の合成を行った。本合成法では、固相合成時にアミノ基の保護様式が異なる Ser を用いることで、逐次的なクロモフォアの導入が可能であり、標的同定を指向して、片方のクロモフォアをジアジド安息香酸に変換した誘導体を合成した。本誘導体は、$IC_{50}$ 2.7 nM (HCT116)を示し、片方のクロモフォアの変換は細胞増殖抑制活性に対して許容であった。環状ペプチド部分の変換については、Boger らによって構築された SAD と

DNA の結合モデルに基づき、相互作用に直接関与していないと示唆される *N*-Me-L-Val を変換することとした。*N*-Me-L-Val を種々変換した誘導体を合成した結果、この位置の疎水性が細胞増殖抑制活性に寄与していることが示唆された。そして、プローブ化を指向して、*N*-Me-L-Lys(Boc)に変換した誘導体は、$IC_{50}$ 0.53 nM (HCT116)を示し、天然物と同程度の細胞増殖抑制活性を示した。Lys 側鎖や Boc 基の嵩高さが細胞増殖抑制活性に影響を与えていないことから、Lys 側鎖のアミノ基を起点として、標的同定を指向して、ビオチンや光親和性タグを修飾し、この位置での化学修飾が可能であることを示した。また、当研究室のヒドラゾン形成反応によるビルドアップライブラリー構築を参考に、作用機序解析に必要な機能化誘導体の迅速な合成を指向して、SAD にホルミル基を導入した誘導体を合成した。本アルデヒド誘導体は、天然物と比較して細胞増殖抑制活性は減弱したものの、十分な細胞増殖抑制活性を示した。アルデヒド誘導体から、複数の機能化誘導体を一挙に合成できることを確認した。そして、合成した機能化誘導体を用いて、SAD の作用機序解析として、細胞内移行性および結合タンパク質の調査を行った。

本研究では、強力な抗がん活性を示し新規抗がん剤リード化合物として期待される SAD について、その作用機序解明を指向して、簡便な誘導体化を可能とする合成法の確立、機能化誘導体の合成、機能化誘導体を用いた SAD の作用機序解析を行った。その結果、これまで明らかとなっていなかった SAD の性質についての知見を得ることができた。