

京都大学	博士 (薬科学)	氏名	辻 諄人
論文題目	Biological and Synthetic Studies of Mitochondrial Respiratory Chain Inhibitors (ミトコンドリア呼吸鎖阻害剤に関する生物および合成化学的研究)		

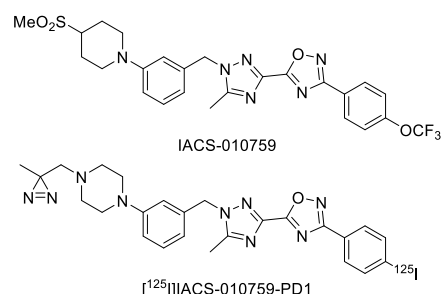
(論文内容の要旨)

ミトコンドリアは生体エネルギー (ATP) の主たる産生場である。ミトコンドリアの呼吸鎖酵素 (複合体-I~V) は、医薬、抗菌剤、農薬等の魅力的な創薬標的であり、多くの阻害剤が開発されている。著者は、ミトコンドリア NADH-キノン酸化還元酵素 (複合体-I) の選択的な阻害剤の作用機序の解明と新規阻害剤の開発を行うことによって、複合体-I の基礎研究の進展や新規薬剤の創出に貢献することを目的として、以下の3項目に関する研究を実施した。

第1章: IACS-010759 の複合体-I における作用機構に関する研究

IACS-010759 は2018年に報告された抗がん剤候補化合物である (Figure 1) ¹。本化合物は、ATP 生合成における解糖系の寄与に対して、酸化的リン酸化への依存度の高い腫瘍細胞の複合体-I を阻害し、HIF-1 産生を抑制すると考えられている。一方、ロテノン等の従来の複合体-I 阻害剤は、抗腫瘍活性に加えて正常細胞に対する顕著な毒性を示すことが知られている。そこで本項目では、IACS-010759 の腫瘍細胞選択性について知見を得るために、複合体-I への作用機構に関する検討を行った。

Figure 1. Chemical structures of IACS-010759 and its photoreactive derivative.

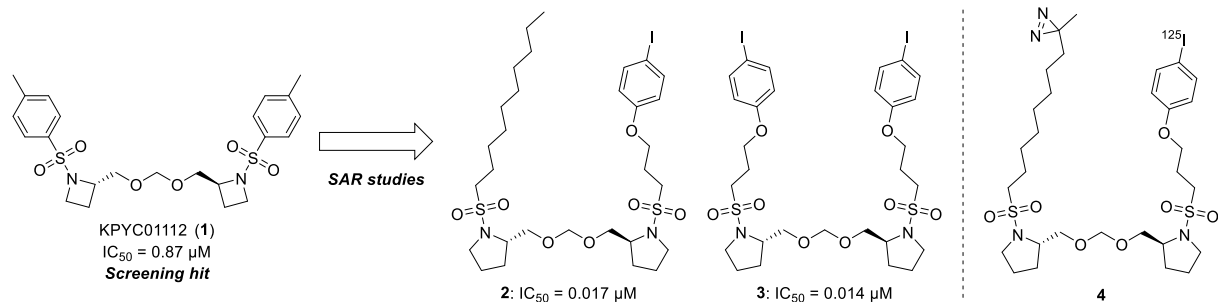


最初に、IACS-010759 のウシ心筋複合体-I に対する影響を精査したところ、キノン還元反応 (順反応) よりもキノール酸化反応 (逆反応) に対して約 20 倍高い阻害活性を示した。また、本化合物はキナゾリン系阻害剤の光親和性標識プローブ [¹²⁵I]AzQ による複合体-I の特異的標識を抑制しなかった。これらの特性は、既知の複合体-I 阻害剤では見られないものである。次に、光反応性プローブ [¹²⁵I]IACS-010759-PD1 (Figure 1) を用いた複合体-I に対する光親和性標識実験を行った。本プローブは複合体-I のキノン結合ポケットの入り口を構成する ND1 サブユニットに特異的に結合し、キナゾリンなどの既知阻害剤の過剰存在下でもこの標識は抑制されなかった。以上の結果から、IACS-010759 は既知阻害剤とは異なる作用機構で複合体-I を阻害することを明らかにした。

第2章: ビススルホンアミド構造を持つ新規複合体-I 阻害剤の同定

引き続き、新規複合体-I 阻害剤の同定を目指して、研究室所有の低分子化合物ライブラリーのスクリーニングを行った。その結果、複合体-I を標的とするユニークな対称ビススルホンアミド阻害剤 [KPYC01112 (**1**), IC₅₀ = 0.87 μM] をヒット化合物として同定した。構造活性相関研究により、**1** より約 60 倍強力な阻害活性を持つ新規スルホンアミド誘導体 **2** (IC₅₀ = 0.017 μM) および **3** (IC₅₀ = 0.014 μM) を見出した (Figure 2)。また、誘導体 **3** をテンプレートとする光反応性プローブ (**4**) を使用した光親和性標識実験を行った結果、**4** は複合体-I を構成する 45 個のサブユニットのうち、キノン結合ポケットを構成する 49-kDa、PSST、ND1 の 3 つのサブユニットに結合することを明らかにした。

Figure 2. Structural optimization of bis-sulfonamide-type inhibitors.

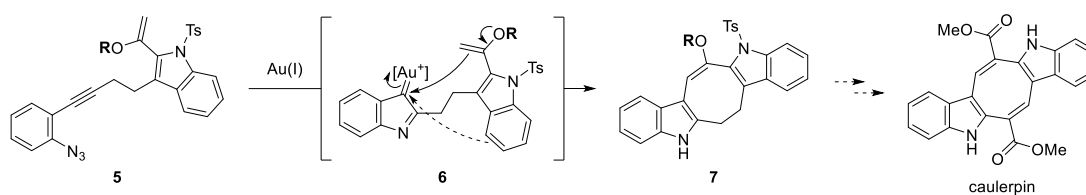


第3章: 金触媒を用いた連続環化反応を基盤とした海洋産天然物 caulerpin 骨格構築法の開発

八員環構造を持つ海洋産ビスインドールアルカロイド caulerpin は、呼吸鎖酵素に作用して低酸素誘導因子 (HIFs) の産生を抑制することが報告されている²。本項目では、caulerpin の多様性志向型合成法の確立を目指し、金触媒による連続環化反応 (5→7) を鍵とする新規 caulerpin 骨格構築法の開発を行った (Scheme 1)。

基質となるアジドアルキン **5** は、市販の 2-iodoaniline から 11 工程で合成した。基質の置換基 R および反応条件を種々検討した結果、R をエチル基とし、金触媒の配位子として Me₄(*t*-Bu)XPhos を用いることで、インドール 4 位の反応による副生成物の生成を抑制し、目的の骨格を持つ八員環化合物 **7** を選択的に 76% の収率で得ることに成功した。

Scheme 1. Construction of indole-fused eight-membered ring.



¹ Molina, J. R., *et al. Nat. Med.* **2018**, *24*, 1036-1046.

² Liu, Y., *et al. J. Nat. Prod.* **2009**, *72*, 2104-2109.

(続紙 2)

(論文審査の結果の要旨)

本博士論文は、ミトコンドリア NADH-キノン酸化還元酵素 (複合体-I) 選択的阻害剤の作用機序解明と新規阻害剤の創製に関わる生物学および合成化学的研究について記述している。序論において著者は、複合体-I の生体内における役割や阻害剤に関する背景を説明し、本研究の明確な位置づけを行っている。続く第一章においては、既知の強力な複合体 I 選択的阻害剤である IACS-010759 の作用機序解明に関する研究について述べている。本阻害剤は他の既知の阻害剤とは異なり、正常細胞への毒性が低い濃度域において高い抗腫瘍活性を示すことが報告されているが、その選択性の由来は明らかにされていなかった。本研究において著者は本阻害剤の結合部位を検討した結果、本阻害剤はキノンアクセスキャビティーに結合することを新たに見出し、高い抗腫瘍活性に関するヒントを得た。

第 2 章において著者は、新規複合体-I 阻害剤の探索研究について記述している。所属研究室が保有する独自の化合物ライブラリーのスクリーニングを実施し、ヒット化合物として対称アセタール構造を有するビススルホンアミド誘導体を同定した。引き続き、環員数、立体化学、ジヤンクション部位、スルホンアミド部位に関する構造活性相関研究を実施し、良好な活性を有する複数の新規複合体-I 阻害剤を見出した。さらに、放射性同位体を用いた光親和性標識プローブ実験を実施し、複合体-I への結合部位に関する重要な知見を得た。

第 3 章では、呼吸鎖複合体に作用する海洋天然物 *caulerpin* の基本骨格構築反応の開発研究を行っている。エチルエノールエーテルを求核部位とするアジドアルキンの金触媒連続環化反応によって、二つのインドールが縮環した八員環基本骨格を構築することに成功した。得られた縮環ビスインドールは、非対称構造を持つ *caulerpin* 誘導体の合成に有用であると期待される。

本博士論文は、生物学および有機合成化学の両面からのアプローチによって辻氏が得た研究成果に基づいて、複合体-I に関する学術的価値の高い知見が適切にまとめられており、博士 (薬科学) の学位論文として価値あるものと認める。また、令和 5 年 2 月 17 日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行った結果、合格と認めた。

要旨公表可能日：2023年6月23日以降