

氏名・（本籍）	<b>Md. Ashraful Hoque</b> （ <b>バングラデシュ</b> ）		
学位の種類	博士（学術）		
学位記番号	生工博甲第175号		
学位授与の日付	平成24年 3月23日		
学位授与の条件	学位規則第4条第1項該当		
学位論文題目	<b>Design and Synthesis of Cyclic Tetrapeptides Containing Thioester and Disulfide Bridge as Inhibitors of Histone Deacetylases</b> （二重環状構造を有するヒストン脱アセチル化酵素阻害剤の設計合成）		
論文審査委員会	委員長	教授	山田 宏
		〃	白井 義人
		〃	石黒 博
		〃	花本 剛士
		〃	鳥井 正史

### 学 位 論 文 内 容 の 要 旨

ヌクレオソームはコアヒストン 8 量体に DNA が巻きついた構造を有している。このヒストンタンパク質の N-末端側ペプチド配列中の、リシン (Lys) 側鎖アミノ基のアセチル化・脱アセチル化やメチル化・脱メチル化によって、細胞周期や分化、或いはアポトーシスが制御されている。脱アセチル化反応は、ヒストン脱アセチル化酵素 (HDAC) によって触媒されている。HDAC の阻害剤は細胞周期の制御をもたらすため、がんなどの医薬品候補となり得る。クラス 1 及び 2 に属する HDAC は、活性中心に亜鉛原子を有する加水分解酵素であり、亜鉛配位子を結合した化合物は HDAC 阻害活性を示すことが多い。現に天然物であり、分子内にジスルフィド基を有する二重環状デプシペプチド FK228 は、抗がん剤として実用化されるに至っている。これは FK228 のジスルフィド基が還元的な細胞内部に取り込まれた後、ジスルフィド基が還元開裂され、生じたスルフヒドリル基が HDAC の亜鉛原子に配位結合する反応機構による。また、環状デプシペプチドをスキファールドとして側鎖にチオエステル基を有する Largazole は、加水分解を経てスルフヒドリル基を露出して HDAC を阻害する。

従来、Trapoxin B、Chlamydocin、及び HC-toxin のような天然環状テトラペプチドの骨格をスキファールドとして、側鎖にヒドロキサム酸や芳香族混合ジスルフィド基を導入した HDAC 阻害剤が種々設計合成されてきたが、これらの官能基が十分に安定ではないことから、抗がん剤としての実用化が阻まれてきた。この問題の解決のために、酸化的環境である血液中においては安定で、細胞内で変化を受けて亜鉛配位可能な状態に変化する、FK228 型のジスルフィド基を導入することが考えられる。そこで、上記天然環状テトラペ

プチド骨格上に、二重環状ジスルフィド結合を導入する分子設計と合成方法の開発が必要となっている。

著者は本論文第1章で、詳細にクロマチン構造、ヒストン修飾とHDACの役割、細胞周期や分化の制御におけるHDAC阻害剤の重要性について記述している。更に、これまでの多数のHDAC阻害剤開発の状況について整理を行っている。

続いて第2章において、天然環状テトラペプチド Chlamydocin 及び Trapoxin B に、ジスルフィド基を有する第二環状構造を形成させる分子設計を行い、それらの合成の試みについて詳述している。まず、意に反して Chlamydocin 骨格上では分子内ジスルフィド結合は殆ど形成せず、分子間に架橋したダイマーやオリゴマーを与えた。これは、環状テトラペプチド骨格上の対向アミノ酸の側鎖が互いに反対方向に延伸し、末端がジスルフィド結合形成可能な距離に近づかないことが原因と推察された。そこで、Trapoxin B 関連環状ペプチド骨格を取り上げ、隣接するアミノ酸の側鎖間の架橋を試みたところ、分子内ジスルフィド結合による二重環状構造の形成に成功した。これらの各種構造解析を行い、かつHDAC阻害活性試験及び細胞試験を実施した結果、遊離のスルフヒドリル基の生成によってFK228と同等の高い活性が認められた。また、二重環状ペプチドの前駆体となるチオエステル体も高い活性を示した。これは前駆体のチオエステル基が細胞内で加水分解され、ジスルフィド体開裂と同じスルフヒドリル体を生じたからであると推論している。

第3章では、構成アミノ酸の立体配置がLDLD配列となる環状テトラペプチド、所謂CHAP31型骨格をスキヤフォールドとして種々分子設計を行い、溶解性や活性の向上を試みた。この構造活性相関研究によって、最適構造を有するKy-382を得ることができたことを詳細に論述している。

更に第4章では、チオエステル基のみを有する脂環式二重環状テトラペプチドの設計合成の経緯と生物活性発現について述べ、第5章では、同じくチオエステル基を活性官能基としつつ、スキヤフォールド上で芳香環の配置を変化させた構造活性相関研究を行い、細胞レベルの活性評価結果について詳細に述べている。

第5章で、著者は本論文が明らかにしたことを簡潔にまとめ、結言を述べている。以上のように、本論文は抗がん剤としての実用化を目指したHDAC阻害剤の開発のため、プロドラッグとして投与後に細胞内で変化し、HDAC阻害に重要な亜鉛配位子のスルフヒドリル基を生成する、ジスルフィド架橋二重環状テトラペプチドの設計合成に成功し、有用な化合物に到達した経緯及び結果を論理的に記述したものであり、生物有機化学を通じた生命体工学の研究分野において寄与するところが大きい。

## 学位論文審査の結果の要旨

本論文に関して、調査委員ならびに公聴会出席者から、ジスルフィド結合の安定性について、還元生成する二つのスルフヒドリル基のHDAC阻害選択性について、ジスルフィド

環化収率の改善について、及び抗がん剤としての実用化の可能性などについての質問がなされたが、いずれも著者の適確な説明によって質問者の理解が得られた。

以上により、論文調査及び最終試験の結果に基づき、審査委員会において慎重に審査した結果、本論文が博士（学術）の学位に十分値するものであると判断した。