

平成 22 年 3 月 31 日現在

研究種目：若手研究 (B)
 研究期間：2007~2009
 課題番号：19710175
 研究課題名 (和文) 血管新生阻害活性を有するコルチスタチンの全合成・作用機構の解明

研究課題名 (英文) Total Synthesis and Mechanistic Studies on Cortistatins, Anti-angiogenesis Reagents

研究代表者

山下 修治 (Yamashita Shuji) 東北大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号：50419991

研究成果の概要 (和文)：

コルチスタチンは、血管新生に必要な血管内皮細胞の増殖を選択的に阻害するため、新規抗ガン剤として注目され、現在世界中で合成研究及び抗ガン作用研究が展開されている。私たちは、独自に開発した合成法を利用して、コルチスタチン A および J の人工合成 (全合成) に成功した。さらに、抗ガン活性を調節するための人工分子の設計・合成も行い、抗ガン作用研究の基盤となる分子ツールを調製した。

研究成果の概要 (英文)：

Cortistatins exhibit extremely strong cytotoxicity against human umbilical vein endothelial cells. Owing to its unique inhibition activity of angiogenesis and unusual steroidal structure, cortistatins have currently become the most challenging targets in the total synthesis. We originally developed the concise and highly stereoselective routes to cortistatin A and J, the most potent congeners.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,400,000	0	1,400,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	700,000	210,000	910,000
年度			
年度			
総計	3,200,000	540,000	3,740,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子化学・生物分子化学

キーワード：天然物有機化学・全合成

1. 研究開始当初の背景

成人の場合、血管新生は、ケガをしてその傷が治るときや女性の子宮内で周期的に起こる。しかし、血管新生が異常に活発になる部分があり、その一つが固形ガンである。固形ガンは大きくなるにつれて、酸素や栄養の確保のために近傍の血管から新たに血管を誘引し、増殖や転移を繰り返すことがわかっ

ている。

コルチスタチン類は 2006 年、小林らによって海綿 *Corticium simplex* から単離された新規ステロイドアルカロイドである (*J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 3148)。コルチスタチン A (**1**) は、血管新生過程で必須である血管内皮細胞 (HUVECs) の増殖を強力に阻害 ($IC_{50}=1.8$ nM) すると報告された。血管新生が阻害され

れば、ガン細胞はアポトーシスを起こし、結果的にガン細胞は小さくなるため、**1** は新規抗ガン剤として注目され、盛んに研究がなされている。**1** の血管内皮細胞に対する増殖阻害活性は、各種培養細胞と比較して 3000 倍以上の選択性を示すため、副作用のない抗血管新生剤としての利用及び新規抗がん剤リード化合物としての利用も期待されている。

有機合成化学は、天然からは微量しか得られない有用物質を社会に供給する唯一の方法であり、特に **1** の全合成は、ガン克服という社会的要請の極めて強い問題解決の糸口となり得るものである。さらに血管新生を阻害する低分子受容体タンパク質の探索は、生体器官の基礎の一つである血管制御機構の解明につながるものであり、生物有機化学の基礎研究として重要かつ魅力的な課題である。

血管新生阻害物質の探索はガン治療にとどまらず、糖尿病、慢性関節リュウマチなど、直接死に至らないが重篤な後遺症を与える成人病対策への足がかりとなる。さらに心筋梗塞、脳梗塞など動脈硬化に由来する疾患では血管の再生が求められており、今後血管新生に関する研究が益々盛んになるのは確実である。本研究は、コルチスタチン A の量的供給、活性発現機構の解明および血管新生抑制物質の創製による分子ツールの提供を行い、これら関連研究への貢献を目指した。

2. 研究の目的

本研究課題で研究代表者は、コルチスタチン A (**1**) のユニークな分子構造と特異な生物活性に着目し、**1** の全合成とその活性発現機構の解明を計画した。

(1) まず、**1** の全合成ルート開発を目指した。研究代表者は単純な 3 つの部分構造を順次連結することで **1** の全合成が可能であると考えた。この方法は短工程で基本骨格が合成でき、効率的かつ独創的な合成戦略であると期待した。

(2) 次に全合成ルートを基盤として **1** の合成誘導体を調製し、構造活性相関研究を展開することにした。コルチスタチン類は研究開始当初、8 つの同族体が単離されていたが、血管新生抑制作用をまったく示さない同族体もあった。**1** の詳細な構造活性相関により、活性発現に必要な置換基および分子骨格を特定することを目的とした。

(3) さらに構造活性相関の情報を基に、活性に比較的影響を与えない部分にラベル化試薬を導入して、未解明であるコルチスタチンの受容体タンパク質の探索を目標とした。

以上 3 点を当初の研究目的に設定した。

3. 研究の方法

コルチスタチン類の網羅的全合成に向け

て、以下の合成計画を立案した (Figure 1)。コルチスタチン A (**1**) のイソキノリン部位は合成の最終段階で導入できると考え、鍵中間体 **3** を設定した。**3** は電子環状反応とラジカル反応を応用することで合成できるとした。**4** は A 環部 **5** と CD 環部 **6** の Knoevenagel 縮合で構築する計画で合成研究を開始した。

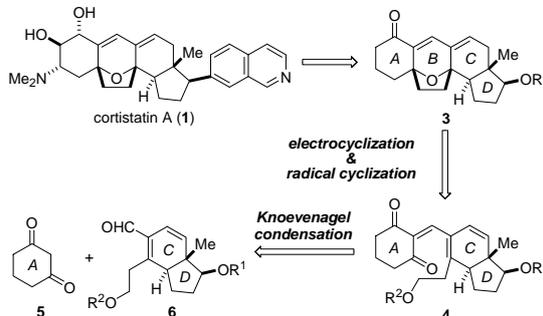
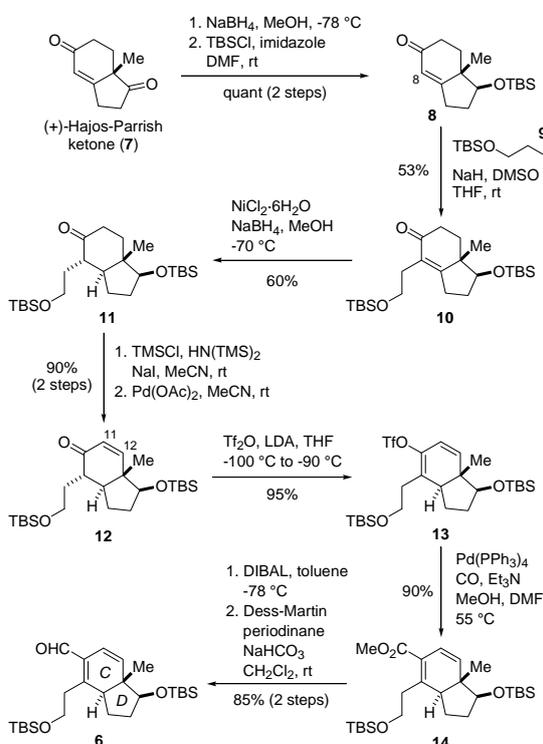


Figure 1. Synthesis plan of cortistatin A

また、**1** の合成中間体を利用してコルチスタチン J (**2**) および、2-デオキシコルチスタチン A、*epi*-コルチスタチン J の全合成も行った。

4. 研究成果

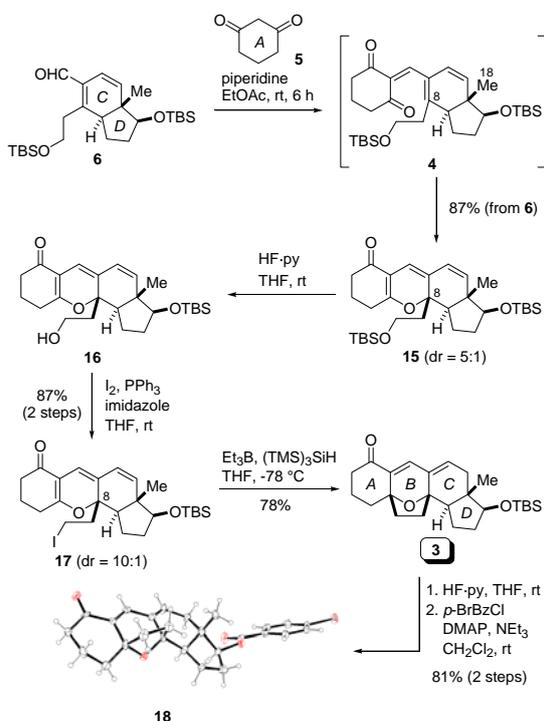
まず、CD 環部の立体選択的合成法を開発した (Scheme 1)。容易に入手可能な (+)-Hajos-Parrish ケトン (**7**) を出発原料に用い、立体選択的にケトン還元・保護してエノン **8** を合成した。ヨウ化物 **9** と連結し、**10** へ誘導したのち、二重結合を立体選択的に還元して、**11** を得た。C11-12 間にオレフィンを導入



Scheme 1. Synthesis of CD-ring of cortistatins

後、低温条件下、リチウムジイソプロピルアミドとトリフルオロメタンスルホン酸無水物で処理してトリフレート **13** へ誘導した。パラジウム触媒存在下、一酸化炭素、メタノールと反応させ **14** を得た後、還元、酸化処理により目的の CD 環部 **6** を合成した。

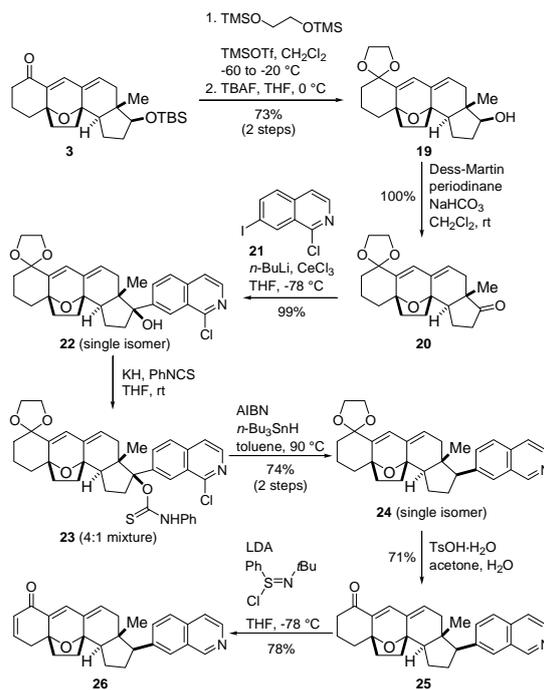
次に基本骨格である ABCD 環部の合成法を開発した(Scheme 2)。合成した CD 環部 **6** と A 環部であるシクロヘキサン-1,3-ジオン **5** を Knoevenagel 縮合にさせたところ、連結反応と電子環状反応が一挙に進行して、ピラン **15** を良好な収率で得た。**15** の第一級水酸基の TBS 基を選択的に除去して **16** とした後、ヨウ素化して **17** を合成した。鍵工程であるラジカル反応を種々検討したところ、低温条件下、**17** をトリエチルボランとトリストリメチルシリルシランで処理すると、良好な収率で環化反応が進行し、望む五環性化合物 **3** が得られることを見出した。得られた **3** の立体化学はベンゾエート **18** に誘導後、X 線結晶構造解析により確認した。



Scheme 2. Synthesis of pentacyclic framework

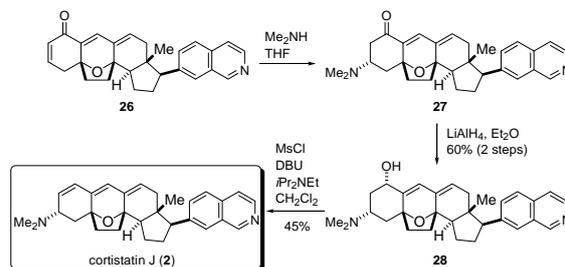
続いてイソキノリン部の効率的導入法を検討した(Scheme 3)。**3** のケトンをエチレングリコールのアセタールとして保護し、D 環部の水酸基を脱保護、酸化してケトン **20** を合成した。1-クロロ-7-ヨードイソキノリン **21** から調整したセリウム試薬と **20** を反応させると、定量的に付加反応が進行して三級アルコール **22** が得られた。**22** をフェニルイソチオシアネートと水素化カリウムで処理して **23** を得た後、ラジカル還元を行

い、**24** を単一の立体異性体として合成した。**24** の保護基を除去後、向山試薬を用いて二重結合を導入し、エノン **26** へ誘導した。



Scheme 3. Installation of isoquinoline moiety

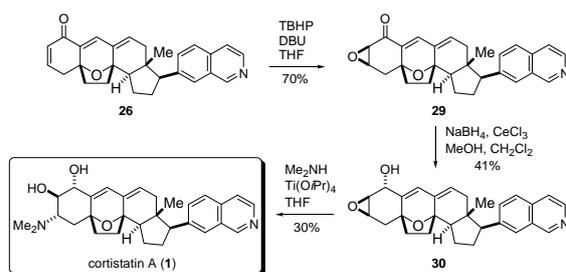
エノン **26** を共通中間体にして、まずコルチスタチン **J(2)** の全合成をおこなった(Scheme 4)。**26** に対してテトラヒドロフラン中、ジメチルアミンを作用させると、A 環部に位置選択的かつ立体選択的な反応が起こり、**27** を与えることを見出した。27 のケトンを選択的に還元すると 2-デオキシコルチスタチン **A** である **28** を合成できた。最後にメタンスルホニルクロリドと塩基で処理することで、コルチスタチン **J(2)** の全合成を完了した。



Scheme 4. Total synthesis of cortistatin J

また、Nicolaou らの報告を参考に、コルチスタチン **A(1)** の合成も行った(Scheme 5)。**26** に対して塩基性条件下、ブチルヒドロペルオキシドを作用させると、立体選択的にエポキシド **29** が合成できた。**29** を塩化セリウムと水素化ホウ素ナトリウムで処理してアルコール **30** を得た。最後にジメチルアミン

を導入してコルチスタチン A(1)の全合成を達成した。



Scheme 5. Total synthesis of cortistatin A

全合成ルートを活用して、生物活性試験用のアナログ分子である、2-デオキシコルチスタチン A、*epi*-コルチスタチン J などの全合成も達成した。

本研究は、新規抗がん剤リード化合物として非常に注目を集めているコルチスタチン類の国内初の全合成例であり、現代化学、*Angew. Chem.*誌などのホットトピックとして取り上げられたほか、天然有機化合物討論会奨励賞、有機合成化学協会若手研究者の仙台セミナー賞を受賞など高い評価を受けた。今後は、合成した分子ツールを駆使して生物活性発現機構に関する研究へ展開し、血管新生の促進・抑制のコントロールを可能にする有機分子の創成を目指す予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 2 件)

(1) **Efficient and stereoselective installation of isoquinoline: formal total synthesis of cortistatin A**

S. Yamashita, K. Kitajima, K. Iso, M. Hirama
Tetrahedron Lett. **2009**, *50*, 3277-3279.(査読有)

(2) **A Concise Synthesis of the Pentacyclic Framework of Cortistatins**

S. Yamashita, K. Iso, M. Hirama *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3413-3415.(査読有)

[学会発表] (計 7 件)

(1)日本化学会第 90 回春季年会
「コルチスタチン A および J の全合成」
磯健太郎・北畠一樹・山下修治・平間正博
2010 年 3 月 28 日 大阪

(2)第 51 回天然有機化合物討論会
「コルチスタチン A および J の全合成」
磯健太郎・北畠一樹・山下修治・平間正博
2009 年 10 月 7 日 名古屋

(3)日本化学会第 89 回春季年会
「コルチスタチン A の全合成研究 (1)」
北畠一樹・磯健太郎・山下修治・平間正博
2009 年 3 月 28 日 千葉
ほか

6. 研究組織

(1)研究代表者
山下 修治 (Yamashita Shuji) 東北大学・
大学院理学研究科・助教

研究者番号：50419991

(2)研究分担者 ()

研究者番号：

(3)連携研究者 ()

研究者番号：