

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 6 月 9 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15270

研究課題名(和文)強力な抗腫瘍活性を持つamphidinolide N類の網羅的全合成と活性評価

研究課題名(英文) Study on total synthesis, stereochemical assignment, and biological assessment of amphidinolide N and its epimers

研究代表者

梅宮 茂伸 (Umemiya, Shigenobu)

東北大学・理学研究科・助教

研究者番号：10802754

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：申請者はC7位エピマー体の合成ルートを改良し、中間体であるC1-C13フラグメントをデカグラムスケールで合成する事に成功した。また、この合成法ではC7位エピマーだけでなく、C10位のエピマー対についても発散的に合成することができ、4つの異性体を全てグラムスケールで合成することに成功した。また、既に合成及び構造決定を行っていたC7位のエピマー体について、昭和薬科大学の久保田教授との共同研究により、その生物活性について調査した。その結果、KB cellに対してIC50=6 µg/mL、L1210 cellに対してIC50=2.8 µg/mLの活性を示すことが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

これまでamphidinolide Nは強力な生物活性を有している事が知られていたが、実際にその全体構造を合成し、活性評価をした例はなかった。今回初めて全体構造を有する化合物の活性評価を行う事に成功し、オリジナルと比べて弱いものの抗腫瘍活性を持つことを明らかとした。これにより、本化合物の立体が活性に与える影響が極めて大きい事が示唆された。本研究を通し、amphidinolide Nのような複雑なマクロリドを大量供給する手法が確立されたとともに、その生物活性試験を実施できたことは、有機合成化学のみならず、天然物化学や医学・生物学への波及効果があったとみなすことができる。

研究成果の概要(英文)：The applicant has improved the synthetic route of the C7 epimer of amphidinolide N. An important intermediate C1-C13 fragment were successfully synthesized on a decagram scale via the present route. This synthetic route was also able to synthesize not only the C7 epimer but also the C10 epimer divergently. Namely, four isomers were successfully prepared on the gram scale by our synthetic strategy. The C7 epimer of amphidinolide N, which had already been synthesized and structurally determined by our group, was investigated for its biological activity in collaboration with Prof. Kubota, in Showa Pharmaceutical University. As a result, it was found that the C7 epimer exhibited IC50=6 µg/mL against KB cells and IC50=2.8 µg/mL against L1210 cells.

研究分野：有機合成化学

キーワード：マクロリド 有機触媒 不斉アルドール反応 構造決定 天然物 全合成

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

amphidinolide N は渦鞭毛藻から単離された強力な抗腫瘍活性を持つ天然物であるが、現在では環境の変化により菌が生産を止めてしまっており、天然から入手することができない。さらに、これまでに得られた化合物のほぼ全てが分解してしまっているため、真の立体構造や活性の発現機構については未解明のままである。本研究で扱う amphidinolide N は複雑な構造と不安定なアリルエポキシド部位を有するマクロリド系天然物であり、その複雑さと不安定性から未だに全合成例はない極めて挑戦的な化合物である。これまでに世界初の化学合成を達成するべく国内外で多数の著名な研究グループ(東北大学佐々木研究室、ライス大学 Nicolaou 研究室、スタンフォード大学 Trost 研究室など)による全合成研究が行われているが、その非常に高い合成難度から小林らの推定構造の合成報告はなく、その正確な立体構造については未だに分かっていない。所属研究室はこれまでに提唱構造のエピマー体の合成を報告している。所属研究室が報告したエピマー体のスペクトルデータと天然体とのスペクトルデータとを比較すると、14 位、16 位のジオール構造において顕著な差異が観察された。また、予備実験として 14 位水酸基の立体化学を反転させた部分構造を合成し、天然体とのスペクトルデータを比較したところ、¹H、¹³C NMR とともに良い一致を示した。また、小林らの立体構造の決定手法から、C7 位、C10 位の立体に関しても、他の不斉点に比べて確実性・信頼性が低いと考えられる。

2. 研究の目的

amphidinolide N の真の立体構造を全合成により決定し、更に活性発現機構を明らかにすることが本研究の目的である。本研究は amphidinolide N の推定構造と類縁体を網羅的に合成する手法を確立し、合成した化合物の生物活性評価とその活性発現機構の解明を行う。これにより、amphidinolide N をベースとした画期的な新規抗がん剤の創製に繋がる可能性があり、人類福祉への大きな貢献が期待される。本研究を推進することで、これまで未解明だったその強力な抗腫瘍活性の活性部位や作用機序を明らかにする事ができる。本研究によって見出される新規合成手法や化合物の毒性・安定性などに関するデータは新規医薬品リード化合物の創製に結びつく可能性があり、創薬化学分野への波及効果も期待される。

3. 研究の方法

小林らの報告した推定構造では C7、C10、C14 位の立体について、信頼性が低い事が知られている。すなわち、これら 3 つの不斉点を自在に構築する手法の確立が必須である。申請者はモデル基質を用いた予備実験により、天然物の C14 位の立体を自在に作り分ける手法を見出している。本手法を用いれば、合成の終盤において C14 位の立体を自在に作り分ける事が可能になる。また、amphidinolide N の構造に着目すると、申請者の所属研究室が開発してきた有機触媒を用いた不斉アルドール反応を用いることで容易に構築可能なユニットが複数含まれていることが分かる。すなわち、適切な逆合成解析により、amphidinolide N を複数のユニットに分割し、それぞれのユニットを不斉アルドール反応により効率的かつ立体選択的に合成することで中間体の大量供給が可能と考えた。不斉アルドール反応を利用することで、C7 位及び C10 位の立体を作り分けつつ、C1-C13 フラグメントの大量合成が可能と考えた。これらの手法を駆使し、信頼性の高い合成ルートを確認することで、真の立体である可能性が高いエピマー群を網羅的に合成する。さらに合成した化合物の生物活性の評価を行う。基本的な方針は、それぞれのユニットを連結していく収束的合成戦略により amphidinolide N の合成を行う。上側ユニット(C17-C29 フラグメント)及び下側ユニット(C1-C13 フラグメント)をカップリング反応により順次連結し、amphidinolide N に必要な全炭素が導入された重要中間体を迅速に合成する。1 位と 25 位間でマクロラクトン化を行ったのち、19 位水酸基の脱保護を行う事でピラン環を導入する。最後に 9 位水酸基の脱保護と酸化によるケトンの導入とアセタール保護基の脱保護、及びエキソメチレンの導入により amphidinolide N の合成を行う。

4. 研究成果

今回、申請者は C7 位エピマー体の合成ルートを改良し、中間体である C1-C13 フラグメントをデカグラムスケールで合成する事に成功した。また、この合成法では C7 位エピマーだけでなく、C10 位のエピマー対についても発散的に合成することができ、C7 位 C10 位のジアステレオマーである 4 つの異性体を全てグラムスケールで合成することに成功した。また、既に合成及び構造決定を行っていた C7 位のエピマー体について、昭和薬科大学の久保田教授との共同研究により、その生物活性について調査した。その結果、KB cell に対して IC₅₀=6 µg/mL、L1210 cell に対して IC₅₀=2.8 µg/mL の活性を示すことが明らかとなった。これまでに全体構造の合成とその生物活性を評価した例は無く、今回初めて amphidinolide N の全体構造を有する化合物が生物活性を有することを明らかとした。小林らによって報告された amphidinolide N は上記二つの細胞に対してそれぞれ IC₅₀=0.06 µg/mL、IC₅₀=0.05 µg/mL と今回合成した C7 位エピマーに比べて遥かに強力な生物活性を有するものの、立体構造が生物活性に与える影響の大きさを示

すことが出来た。残りのジアステレオマーについてはまだ合成が完了していないものの、例えば C10 位エピマー体については中間体であるマクロラク톤を 300mg 以上合成することに成功した。現在、C9 位アシル基の脱保護の検討を行っているところである。

また、興味深い事に、C14 エピマー体の合成中に、津田らにより報告されている neocaribenolide I と呼ばれる amphidinolide N の類縁体のエピマー合成にも成功した。Neocaribenolide I はエポキシドの代わりに THF 環が存在する構造を有しており、これは最終段階でのアセトニド基の脱保護をカンファースルホン酸 (CSA) で行った際、水酸基の分子内攻撃によるエポキシド開環が進行し、THF 環が生成したものと考えられる。今後は neocaribenolide I と amphidinolide N を作り分ける事が可能な合成ルートの探索と立体化学に関する考察を行い、真の立体を有する amphidinoline N の合成へと展開する予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 0件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kayal Satavisha, Kikuchi Jun, Shinagawa Naoya, Umemiya Shigenobu, Terada Masahiro	4. 巻 98
2. 論文標題 Development of chiral bisphosphoric acid/boronic acid co-catalyst system for enantioselective SN2' reaction	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 132412 ~ 132412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2021.132412	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Umemiya Shigenobu, Terada Masahiro	4. 巻 23
2. 論文標題 Catalytic Enantioselective Allylation of Acetylenic Aldehydes by Chiral Phosphoric Acid/Transition Metal Cooperative Catalysis: Formal Synthesis of Fostriecin	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 3767 ~ 3771
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.1c01166	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Umemiya Shigenobu, Lingqi Kong, Eto Yuno, Terada Masahiro	4. 巻 51
2. 論文標題 Chiral Bronsted Acid Catalyzed Enantioconvergent Synthesis of Chiral Tetrahydrocarbazoles with Allenylsilanes from Racemic Indolylmethanols	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemistry Letters	6. 最初と最後の頁 391 ~ 394
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1246/cl.210803	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Kayal Satavisha, Kikuchi Jun, Shinagawa Naoya, Umemiya Shigenobu, Terada Masahiro	4. 巻 13
2. 論文標題 Kinetic resolution of racemic tertiary allylic alcohols through SN2' reaction using a chiral bisphosphoric acid/silver salt co-catalyst system	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 9607 ~ 9613
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2SC03052G	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Umemiya Shigenobu, Shinagawa Naoya, Terada Masahiro	4. 巻 25
2. 論文標題 Scalable Total Synthesis of Leucascandrolide A Macrolactone Using a Chiral Phosphoric Acid/CuX Combined Catalytic System	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 1924 ~ 1928
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.3c00450	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 品川 尚弥、梅宮 茂伸、寺田 眞浩
2. 発表標題 キラルリン酸触媒を用いたLeucascandrolide Amacrolactone の効率的全合成
3. 学会等名 日本化学会第103春季年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------