

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 14 日現在

機関番号：17501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2011～2015

課題番号：23590013

研究課題名(和文)ケモエンザイマティック合成による高水溶性タキソール誘導体の開発とその応用

研究課題名(英文)Synthesis of highly water-soluble taxol derivatives

研究代表者

下田 恵 (Shimoda, Kei)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：40284153

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：タキソールのような水に溶け難い抗がん剤を、水に溶け易いタキソール誘導体へ変換する合成技術の開発を行った。申請者らは、化学合成に、反応工程の大幅な短縮が可能な、酵素を利用したモノサッカロース付加反応を組み合わせた、効率的な合成手法であるケモエンザイマティック合成法により、化学的合成手法と比較して、水酸基の保護・脱保護といった煩雑な合成工程を簡略化することに成功し、タキソールに、モノサッカロースを結合させた、親水性の高いタキソール誘導体を合成した。

研究成果の概要(英文)：Taxol is a taxane diterpenoid, which shows cytotoxic activity against leukemia cells and inhibitory action against a variety of tumors. It has been recognized as one of the most effective and widely used drugs for the treatment of ovarian, breast, and lung cancers. Despite its effective pharmacological activities, taxol has shortcomings such as low solubility in water. To date, a number of taxol derivatives have been designed and chemically prepared in order to enhance its water-solubility. Saccharide conjugation drastically enhances the water-solubility of aglycones. We synthesized highly water-soluble monosaccharide conjugates of taxol by chemo-enzymatic procedures.

研究分野：生物化学

キーワード：タキソール 誘導体 合成

1. 研究開始当初の背景

(1) タキソールのような水に対する溶解度が極めて低い抗がん剤を、水に溶け易い誘導体へ変換するため、これまでに、エステルやアミドを結合させたタキソール誘導体が開発されているが、水溶性はさほど高くないため、溶解度のより優れた誘導体の開発が必要である。

(2) 研究代表者らは、酵素的な合成工程と、化学的な合成工程を組合せた、ケモエンザイマティック合成法により、水に溶け難い化合物に、サッカロースなどを結合させた、親水性の高い誘導体を合成する手法を開発した。

2. 研究の目的

水に溶け難いタキソールへ、モノサッカロースを結合させた、水溶性の高いタキソール誘導体を、ケモエンザイマティック合成法により、効率的に合成する事を目的としている。水酸基の保護・脱保護および反応点の活性化の工程を必要とする、化学合成と比較して、工程数の少ないケモエンザイマティック合成による、効率的な水溶性タキソール誘導体の合成法を確立する。

3. 研究の方法

(1) タキソールのモノサッカライド誘導体の化学的合成

DMF 存在下で、グルコースとベンジルブロマイドを反応させることにより、ペンタベンジルグルコースを調製した。次に、生じたペンタベンジルグルコースへ、フッ化水素酸を作用させることにより、1位をフッ素化したテトラベンジルグルコースを調製した。これと、グリコール酸を反応させることにより、テトラベンジルグリコール酸グリコシドを調製した。ジクロロメタン中で、ジイソプロピルエチルアミンおよびクロロトリエチルシランと、タキソールを反応させた。生じた2'-タキソールと、テトラベンジルグリコール酸グリコシドを、ジクロロメタン中で EDCI/DMAP 存在下反応させた。エタノールおよびジオキサン中で、Pd/C と反応させることで、グリコール酸でエーテル結合させた、タキソールのグルコース誘導体を合成した。

(2) タキソールのモノサッカライド誘導体のケモエンザイマティック合成

ジメチルスルホキシド-水中において、グルコース供与体存在下で、グルコシダーゼとプロピオン酸を添加した。ジメチルホルムアミド存在下で、ベンジルブロマイドを反応させることにより、テトラベンジルプロピオン酸グリコシドを調製した。ジクロロメタン中で、ジイソプロピルエチルアミンおよびクロロトリエチルシランと、タキソールを反応させた。生じた2'-タキソールと、テトラベンジルプロピオン酸グリコシドを、ジクロロメタン中で EDCI/DMAP 存在下反応させた。エタノールおよびジオキサン中で、Pd/C と反応させることで、プロピオン酸でエーテル結合させた、タキソールのグルコース誘導体を合成した。

4. 研究成果

本研究は、岡山理科大学の濱田博喜教授(連携研究者)とともに研究を実施した。

(1) タキソールのモノサッカライド誘導体の化学的合成

DMF 存在下、グルコースの全ての水酸基を保護する為、グルコースをベンジルブロマイドと反応させ、ペンタベンジルグルコースを得た。得られたペンタベンジルグルコースの1位を活性化する為、ペンタベンジルグルコースへフッ化水素酸を作用させ、1位をフッ素化したテトラベンジルグルコースを得た。これへ、グリコール酸を反応させ、テトラベンジルグリコール酸グリコシドを得た(図1)。

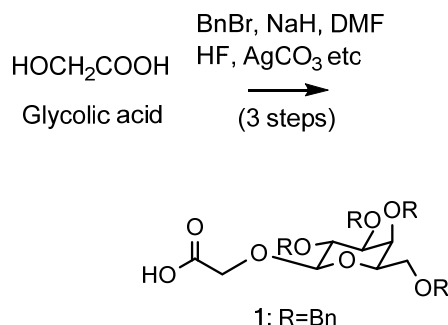


図1

ジクロロメタン中、ジイソプロピルエチルアミン、クロロトリエチルシランと、タキソールを反応させることにより、タキソールの2'位を TES 基で保護した。2'-タキソールと、テトラベンジルグリコール酸グリコシドを、ジクロロメタン中で EDCI/DMAP 存在下反応させることにより、グルコースの水酸基をベンジル基で保護した、タキソール誘導体を得た。エタノールおよびジオキサン中で、Pd/C と反応させることで、グリコール酸でエーテル結合させた、タキソールの水溶性のグルコース誘導体を得た(図2)。

(2) タキソールのモノサッカライド誘導体のケモエンザイマティック合成

ジメチルスルホキシド-水の二層溶媒中において、グルコシダーゼを生体触媒として反応系に加え、プロピオン酸を、酵素的にグリコシド化した。グリコシド化プロピオン酸に、ジメチルホルムアミド存在下で、ベンジルブロマイドを反応させることにより、テトラベンジルプロピオン酸グリコシドを得た(図3)。ジクロロメタン溶媒中で、ジイソプロピルエチルアミン、クロロトリエチルシランと、タキソールを反応させることにより、2'位を位置選択的に TES 基で保護した。得られた2'-タキソールと、テトラベンジルプロピオン酸グリコシドを、ジクロロメタン溶媒中で EDCI/DMAP 存在下、反応させることにより、グルコースの水酸基をベンジル化した水溶性のタキソール誘導体を得た。エタノールおよびジオキサン中で、Pd/C と反応させ、プロピオン酸でエーテル結合させた、タキソールの水溶性のグルコース誘導体を得た。これにより、1)の化学的な合成より、反応工程を簡

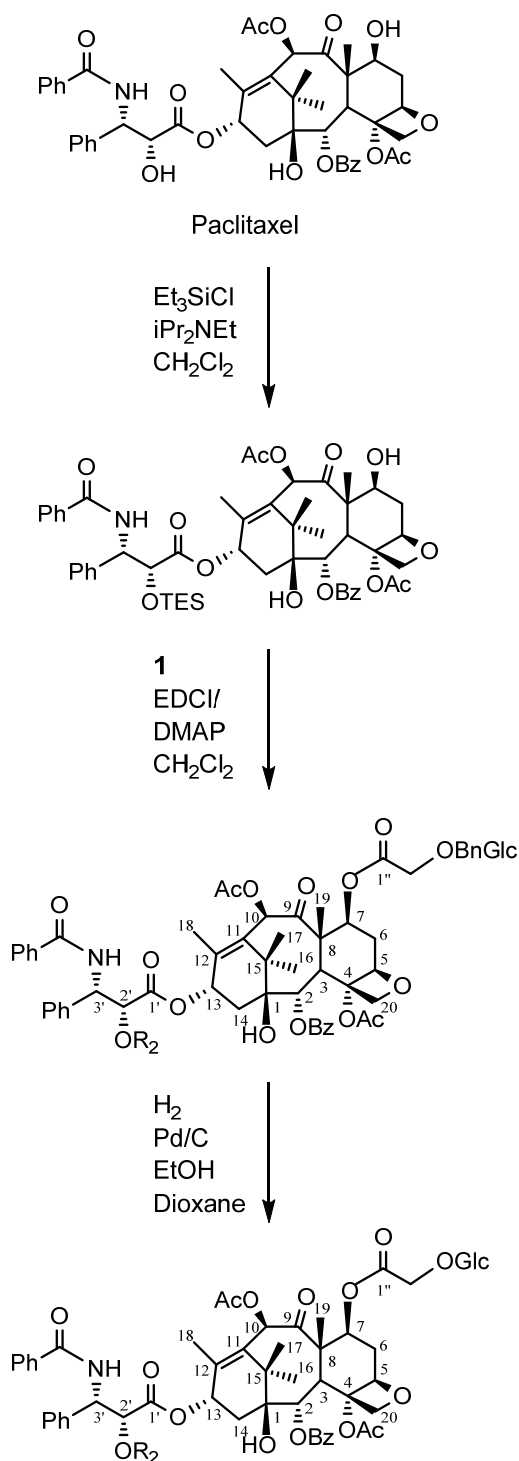


図 2

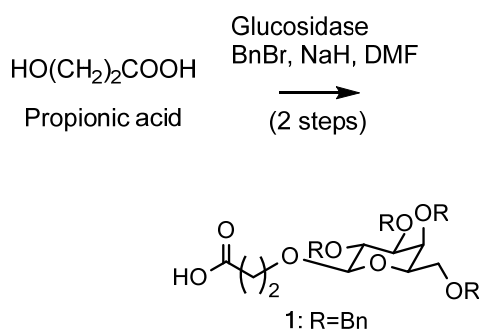


図 3

略化したケモエンザイマティック合成による、効率的な水溶性タキソール誘導体の合成法の開発に成功した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 5 件)

- ① K. Shimoda, N. Kubota, D. Uesugi, H. Hamada, M. Tanigawa, H. Hamada, Synthesis and pharmacological evaluation of glycosides of resveratrol, pterostilbene, and piceatannol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 査読有, 1348 巻, 2015, 141-149
- ② D. Sato, N. Shimizu, Y. Shimizu, M. Akagi, Y. Eshita, S. Ozaki, N. Nakajima, K. Ishihara, N. Masuoka, H. Hamada, K. Shimoda, N. Kubota, Synthesis of glycosides of resveratrol, pterostilbene, and piceatannol, and their anti-oxidant, anti-allergic, and neuroprotective activities. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, 査読有, 78 巻, 2014, 1123-1128
- ③ K. Shimoda, N. Kubota, M. Hamada, K. Suwada, H. Hamada, H. Hamada, Regioselective hydroxylation and glucosylation of α - and β -pinenes with cultured cells of *Eucalyptus perriniana*. *Natural Product Communications*, 査読有, 8 巻, 2013, 847-849
- ④ K. Shimoda, N. Kubota, M. Hamada, M. Sugamoto, K. Ishihara, H. Hamada, H. Hamada, Glucosylation of taxifolin with cultured plant cells. *Natural Product Communications*, 査読有, 8 巻, 2013, 903-904
- ⑤ R. Hosoda, Y. Horio, K. Shimoda, M. Hamada, H. Hamada, H. Hamada, Regioselective hydroxylation and glucosylation of flavanones with cultured plant cells of *Eucalyptus perriniana*. *Natural Product Communications*, 査読有, 8 巻, 2013, 905-906

[学会発表] (計 5 件)

- ① S. Okada, D. Uesugi, N. Nakayama, S. Doi, S. Kawamura, K. Shimoda, S. Ozaki, H. Hamada, Synthesis and evaluation of glycosides of *trans*-resveratrol, pterostilbene, and piceatannol. ISPSA2015 TOKUSHIMA, August 30 – September 2, 2015, 徳島文理大学 (徳島県徳島市)
- ② D. Uesugi, E. Noyama, M. Araki, N. Nakayama, S. Okada, S. Ozaki, K. Shimoda, N. Kubota, H. Hamada, Biotransformation of stilbene compounds using plant cultured cells. Pacific Basin Societies 2015, December 15 – 20, 2015, Honolulu, Hawaii (USA)
- ③ D. Uesugi, K. Shimoda, H. Hamada, Synthesis and evaluation of glycoside of *trans*-resveratrol, pterostilbene, and piceatannol. The 13th China-Japan-Korea Joint Symposium on

Enzyme Engineering, November 16 – 20,
2014, Jeju Grand Hotel, Jeju Island (Korea)

④ H. Hamada, D. Uesugi, K. Shimoda,
Synthesis and evaluation of glucosides of
trans-resveratrol, pterostilbene and
piceatannol. RESVERATROL 2014,
November 30 – December 3, 2014, Waikoloa,
Hawaii (USA)

⑤ D. Uesugi, K. Shimoda, N. Kubota, H.
Hamada, The glycosylation of phenolic
compounds using plant cultured cells. Active
Enzyme Molecule, December 17 – 19, 2014,
富山国際会議場 (富山県富山市)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

下田 恵 (SHIMODA Kei)

大分大学・医学部・准教授

研究者番号：40284153

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

濱田 博喜 (HAMADA Hiroki)

岡山理科大学・理学部・教授

研究者番号：10164914