

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790005

研究課題名(和文)抗腫瘍活性天然物ヤクアミドAおよび構造簡略化体の全合成研究

研究課題名(英文) Synthetic and structure-activity relationship study on a new anticancer agent, yaku' amide A

研究代表者

倉永 健史 (Kuranaga, Takefumi)

東京大学・薬学研究科(研究院)・助教

研究者番号：70625201

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：ヒト癌細胞株39系に対して、他の抗がん剤と比較し特異な増殖阻害活性を有することが報告されているペプチド系天然物ヤクアミドAの全合成研究を行った。その全合成には不飽和アミノ酸部位をE/Z選択的に合成する必要があったが、本研究において銅触媒を用いる不飽和アミノ酸部位の合成法、さらに不飽和アミノ酸部位のE/Z異性を抑制したペプチド鎖伸長法が開発され、ヤクアミドAの世界初の全合成が達成された。またStaudingerライゲーションを用いる不飽和アミノ酸部位の効率的合成法の開発も行い、今後本法を用いてヤクアミド類合成の更なる効率化が可能となると期待される。

研究成果の概要(英文)：A cytotoxic peptide yaku'amide A was isolated from a marine sponge as an extremely potent cytotoxin. The growth-inhibitory activity of yaku'amide A against a panel of 39 human cancer cell lines is quite unique among known anticancer drugs. Therefore, it is suggested that yaku'amide A possesses new mode of action to exert its bioactivity. In order to evaluate its detailed biological activity, chemical synthesis for supplying material was required. In this project, the development of a new assembly method of the dehydroamino acid residue utilizing Cu-mediated cross coupling reaction and the first total synthesis of yaku'amide A were achieved. In addition to this, another approach for the synthesis of Z-dehydroamino acid using Staudinger ligation was also established.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：化学系薬学

キーワード：ケミカルバイオロジー ペプチド 全合成 ヤクアミド

1. 研究開始当初の背景

2010年、屋久新曹根産カイメン *Ceratopsion* sp. から新規ペプチド系天然物 ヤクアミド A および B (1 および 2, Figure 1) の単離・構造決定が報告された。ヤクアミド A および B は、マウス白血病細胞 P388 に対してそれぞれ IC₅₀ 値 8.5 nM および 2.4 nM という非常に強力な細胞毒性を示す。またヤクアミド A はヒト癌細胞株 39 系(JFCR39)に対して他の抗がん剤と比較し、特異な増殖阻害活性プロファイルを示すことが報告されていた。

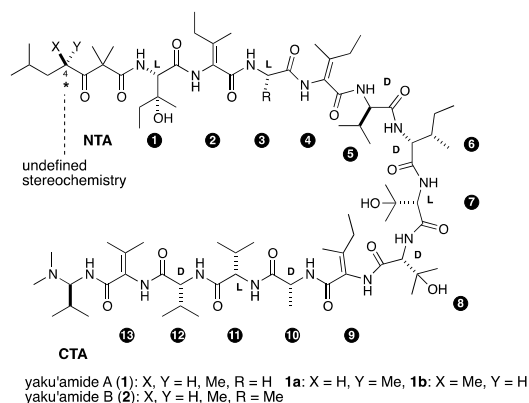


Figure 1. Structures of yaku'amide A (1) and yaku'amide B (2).

一方、その強力な細胞毒性およびユニークな抗がん活性プロファイルから、生物学的あるいは薬学的に非常に興味を持たれる化合物ではあったものの、ヤクアミド A および B は稀少海綿 *Ceratopsion* sp. 湿重量 340 g よりそれぞれ 0.0013 g および 0.0003 g という極めて微量しか得られず、天然からの試料供給による詳細な生物科学研究は困難であった。そのため、ヤクアミド類の全合成による試料供給および構造類縁体の化学合成による構造活性相関研究が望まれていた。

また近年、クロイソカイメンより毒性成分として単離されたハリコンドリニン B の全合成研究から、その構造簡略化体である新規抗がん剤エリプリンが開発されていた。そのためヤクアミド A の全合成研究および構造活性相関研究も、新規抗がん剤の設計・開発につながる可能性を有するものと考えられた。

2. 研究の目的

ヤクアミド A および B は、4 つの α,β -不飽和アミノ酸および 3 つの β -ヒドロキシアミノ酸を含む多数の非タンパク質構成アミノ酸からなるトリデカペプチドである。また、これまで単離・構造決定された天然物において報告例のない特徴的な両末端構造を有する。また、ともに N 末端構造中 C4 位に絶対立体配置未決定部位を残していた (Figure 1)。

本研究ではヤクアミド類の化学合成による完全構造決定、詳細な生物活性試験のための実践的試料供給を目的とし、ヤクアミド A の全合成研究を行った。

さらに、天然物より容易に合成可能な抗がん活性化化合物の開発を目指し、ヤクアミド類の構造活性相関研究に有効であると考えられる α,β -不飽和アミノ酸含有ペプチドの高効率の合成法の開発も目的とし、本研究を行った。

3. 研究の方法

ペプチド系天然物ヤクアミド A の全合成は、その構成アミノ酸やペプチドフラグメント、C および N 末端フラグメントをその配列に従い順次連結することで達成される (Figure 2)。しかしその全合成には、構造中に 3 残基含まれる α,β -不飽和アミノ酸であるデヒドロイソロイシン (第 2、第 4 および第 9 残基) の *E/Z* 選択的合成、さらにその *E/Z* 異性化を抑制したペプチド鎖伸長法の開発が必要であった。

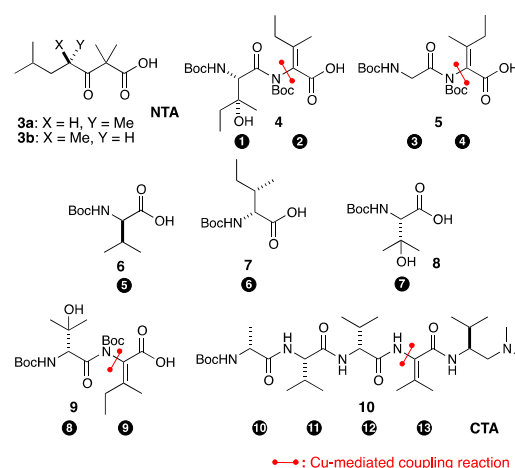
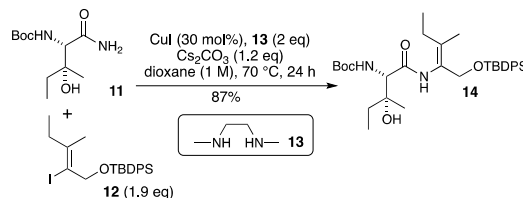


Figure 2. Structures of the fragments for the total synthesis of 1.

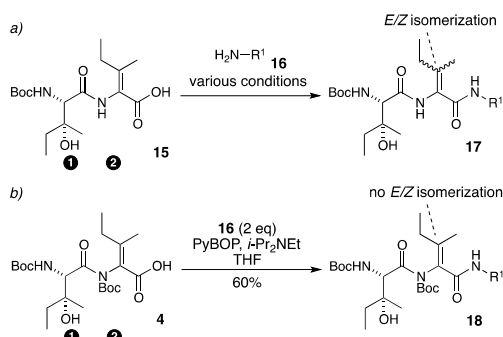
本研究ではアミドとアルケニルヨージドの銅触媒を用いたクロスカップリング反応により、デヒドロイソロイシンへと容易に誘導可能なエナミドを高収率で得られることを見出した。当初は反応中においてエナミド部位の *E/Z* 異性化が起きていたが、反応系の濃度、用いる配位子の当量、反応温度の制御により *E/Z* 異性化を抑制し、ヤクアミド A の全合成に必要なエナミドフラグメントを得た (Scheme 1)。



Scheme 1. Synthesis of enamide 14.

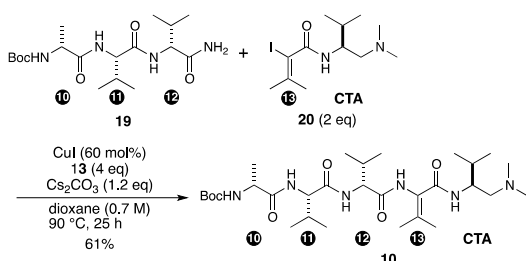
得られたエナミドをそれぞれデヒドロイソロイシン部位へと誘導し、それらを他のアミノ酸と連結することでヤクアミド A の全合成が達成されると想定していたものの、デヒドロイソロイシン部位のペプチド鎖の伸長反応においても、その *E/Z* 異性化が起きる

ことが判明した(Scheme 2a)。反応系中の詳細な解析を行った結果、エナミド部位を保護することで *E/Z* 異性化の副反応を抑制しつつペプチド鎖の伸長が可能となることを見出し、先の銅触媒を用いたクロスカップリング反応と合わせ、デヒドロイソロイシン部位の *E/Z* 選択的合成が可能となった(Scheme 2b)。



Scheme 2. Model study for isomerization-free amidation of α,β -dehydroisoleucine.

ヤクアミド A 中に含まれる 3 つの β -ヒドロキシアミノ酸、C 末端アミンおよび N 末端アシル基フラグメントは化学合成により調達した。N 末端フラグメントについては、構造未決定部位の完全構造決定のため、可能構造のフラグメントである 2 つのエナンチオマー **3a** および **3b** (Figure 2) を合成した。さらに、銅触媒を用いたクロスカップリング反応による α,β -不飽和アミノ酸含有ペプチドの収束的合成研究にも取り組み、第 10–13 残基および C 末端アミンを含むフラグメント **10** を合成した(Scheme 3)。

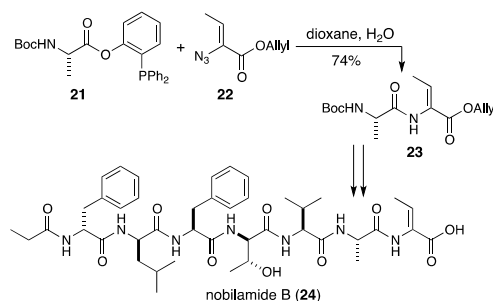


Scheme 3. Synthesis of C-terminal tetrapeptide (**10**).

得られた各フラグメント(**3–10**, Figure 2)を C 末端側から縮合反応により順次連結し、最後にそれぞれ絶対立体配置の異なる N 末端フラグメントを連結することでヤクアミド A の 2 つの可能構造ジアステレオマー(**1a** および **1b**, Figure 1) を合成した。得られた両ジアステレオマーと天然物との NMR スペクトルの比較により、構造未決定であったヤクアミド A の N 末端中 C4 位の絶対立体化学を *S* 配置であると決定した。

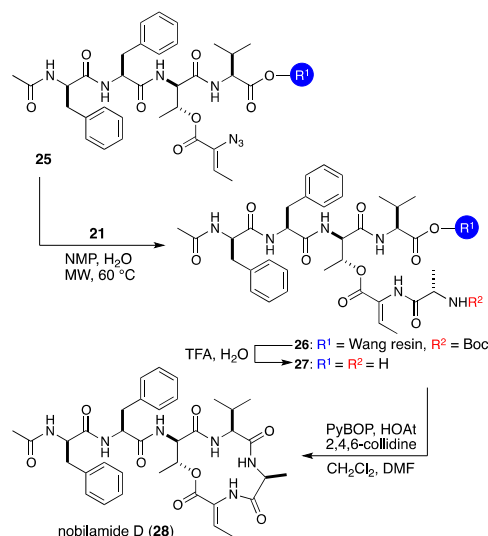
さらに、 α,β -不飽和アミノ酸含有ペプチドの高効率の合成法の開発研究として、中性条件下反応が進行するため官能基許容性の高い Staudinger ライゲーションを用いる収束的 α,β -不飽和アミノ酸合法を開発した。本法を用い、カプサイシン受容体の長期アンタゴニ

スト活性を有し、ヤクアミド同様その構造中に α,β -不飽和アミノ酸を含むペプチド系天然物であるノビラミド B (**24**) の全合成に成功した(Scheme 4)。



Scheme 4. Total synthesis of nobilamide B (**24**).

本法はペプチド固相合成法にも適用可能であり、ノビラミド B 天然類縁体である環状デシペプチド天然物ノビラミド D (**28**) の全合成も達成し、その有用性が示された(Scheme 5)。



Scheme 5. Total synthesis of nobilamide D (**28**).

4. 研究成果

新規細胞毒性ペプチド系天然物ヤクアミド A の全合成研究を行った。

銅触媒を用いたクロスカップリング反応によるデヒドロイソロイシン部位の *E/Z* 選択的合成、さらにそれらの *E/Z* 異性化を抑制したフラグメント連結を鍵反応として、ヤクアミド A の全合成および完全構造決定に成功した。

また、ペプチド固相合成法にも適用可能な、Staudinger ライゲーションを用いる α,β -不飽和アミノ酸含有ペプチドの高効率の合成法の開発も行い、本合成戦略によりペプチド系天然物ノビラミド B および D の全合成も達成した。今後本法を用いてヤクアミド類合成の効率的合成が可能となるものと期待される。

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 4 件)

T. Kuranaga, Y. Sesoko, K. Sakata, N. Maeda, A. Hayata, M. Inoue
Total Synthesis and Complete Structural Assignment of Yaku'amide A
J. Am. Chem. Soc. **2013**, 135, 5467-5474.
(査読あり)

H. Itoh, S. Matsutaka, T. Kuranaga, M. Inoue
Control of the cytotoxicity of dansylated polytheonamide mimic, an artificial peptide ion channel, by modification of the N-terminal structure
Tetrahedron Lett. **2014**, 55, 728-731.
(査読あり)

T. Kuranaga, Y. Sesoko, M. Inoue
Cu-mediated enamide formation in the total synthesis of complex peptide natural products
Nat. Prod. Rep. **2014**, 31, 514-532.
(査読あり)

T. Yamashita, H. Matoba, T. Kuranaga, M. Inoue
Total syntheses of nobilamides B and D: application of traceless Staudinger ligation
Tetrahedron (掲載決定済み).
(査読あり)

〔学会発表〕(計 6 件)

Takefumi Kuranaga, Yusuke Sesoko, Komei Sakata, Naoya Maeda, Atsushi Hayata, Masayuki Inoue
Synthetic Studies on Yaku'amides
The 7th International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (ICCEOCA-7) 2012年12月 シンガポール

瀬底祐介、坂田光命、前田直也、早田敦、倉永健史、井上将行
ヤクアミド A の全合成
日本薬学会第 133 年会 2013 年 3 月 横浜

松高祥子、伊藤寛晃、倉永健史、井上将行
ポリセオナミドミミックの N 末端構造改変による機能制御
日本薬学会第 133 年会 2013 年 3 月 横浜

Takefumi Kuranaga, Yusuke Sesoko, Komei Sakata, Naoya Maeda, Atsushi Hayata, Masayuki Inoue
Total Synthesis and Complete Structural Assignment of Yaku'amide A
第 23 回日仏医薬精密化学会議 [23rd French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry (FJS 2013)] 2013 年 5 月 長崎

倉永健史、瀬底祐介、坂田光命、前田直也、早田敦、井上将行
ヤクアミド A の全合成および完全構造決定
第 103 回有機合成シンポジウム 2013 年 6 月 東京

山下智也、的場博亮、倉永健史、井上将行
Staudinger 反応を用いた α,β -不飽和アミノ酸の合成
第 67 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム 2014 年 5 月 横浜

〔その他〕
ホームページ等
<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~inoue/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

倉永 健史 (KURANAGA TAKEFUMI)
東京大学・大学院薬学系研究科・助教
研究者番号：70625201