

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14867

研究課題名(和文) がん微小環境応答型分子エピジチオジケトピペラジン類の創製

研究課題名(英文) Research toward the development of microenvironment-responsive epidithiodiketopiperazines

研究代表者

君嶋 敦 (Kimishima, Atsushi)

大阪大学・薬学研究科・特任助教

研究者番号：20812134

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：正常細胞にはみられない、がん細胞特異的な微小環境下で、選択的にがん細胞の増殖を阻害すると期待される天然物DC1149B、及びその類縁体について迅速かつ網羅的な合成研究に取り組み、生物活性発現に必須な化学構造の解明を目指した。その結果、独自に開発した一重項酸素を用いる脱芳香環化/oxy-Michael付加のタンデム反応を基盤とし、トリコデルマミド系天然物三種の不斉合成を達成した。また、DC1149Bにおいてはその化学構造と低栄養環境選択的がん細胞増殖阻害活性の相関についても重要な知見を得るに至った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本課題では、DC1149Bおよび類縁化合物の網羅的合成研究に取り組んだ。その結果、共通重要骨格である光学活性なcis-1,2-オキサザデカリンエノンの効率的な新規構築法を開発した。また、本手法を基盤として、トリコデルマミドD,E及びFの統一的な初の不斉合成を達成した。本化合物群は副作用の少ない抗がん剤のリード化合物への可能性を秘めていることから、今回得られた成果は合成化学及び創薬化学の両領域への大きな波及効果が期待できる。

研究成果の概要(英文)：During the course of our screening for growth inhibitors against the cancer cells, DC1149B was isolated along with its related compounds, trichodermamide A and aspergillazine A, from an Indonesian marine derived fungus, *Trichoderma* sp. These natural products exhibit potent bioactivity and possess a highly functionalized cis-1,2-oxazadecaline skeleton and therefore have attracted both of medicinal and synthetical interest. However, to date, two racemic and only a single enantioselective synthesis of trichodermamide A, B and C have been reported. In this study, we developed a new method for the construction of cis-1,2-oxazadecalin enone via tandem dearomatization/intramolecular oxy-Michael addition sequence of tyrosine derivatives. In addition, we also applied the method for natural products synthesis and achieved several enantioselective synthesis of trichodermamides.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然物合成 フロー合成 網羅的合成 酸化的脱芳香環化 トリコデルマミド がん微小環境 構造活性相関

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

固形がんでは、自身の増殖速度が栄養供給に必要な血管の形成速度を上回る(血管形成不全)ことで、正常組織には見られない微小環境(栄養飢餓、低酸素状態)を生じることが知られている。また微小環境に適応したがん細胞は病態の悪化に大きく関与していることから、微小環境選択的にがん細胞の増殖を阻害する化合物は、副作用の少ない新規抗がん剤のリードとして期待されている。このような背景のもと、申請者らはグルコース飢餓環境に適応した PANC-1 (ヒト膵臓がん由来株化細胞) に対して選択的に増殖阻害活性を示す化合物の探索を行ってきた。そして最近、インドネシア産海綿より分離した真菌 15G49-1 株の培養抽出物から、強力な活性と選択性 ( $IC_{50}=0.02 \mu\text{M}$  : 通常環境での活性の約 35500 倍) を有する化合物 DC1149B (**1**) をその類縁体であるアスペルギラジン A (**3**) およびトリコデルマミド A (**4**) とともに単離、同定した (*J. Nat. Med.* **74**, 153. (2020))。 **1** はその新規な生物活性もさることながら、化学構造が極めて複雑で興味深い。即ち、*cis*-1,2-オキサザデカリンや、特異なピシクロ [3.2.2] 骨格を持つエピジチオジケトピペラジン、さらに不安定なアリルクロリド等を含む。また、**1** には図示した類縁体 (**2-9**) を含めて多数存在し、その構造は多様化しており、合成化学的に非常に興味深い化合物群である (**Figure 1**)。その一方で、これらの化合物の合成例は、現在までにトリコデルマミド A、B、および C の報告があるのみであった。また、そのほとんどがラセミ合成であり、唯一の不斉合成例では *cis*-1,2-オキサザデカリン骨格の構築に 19 工程を要しており、詳細な構造活性相関研究を指向した実用的な合成法の報告はなかった。

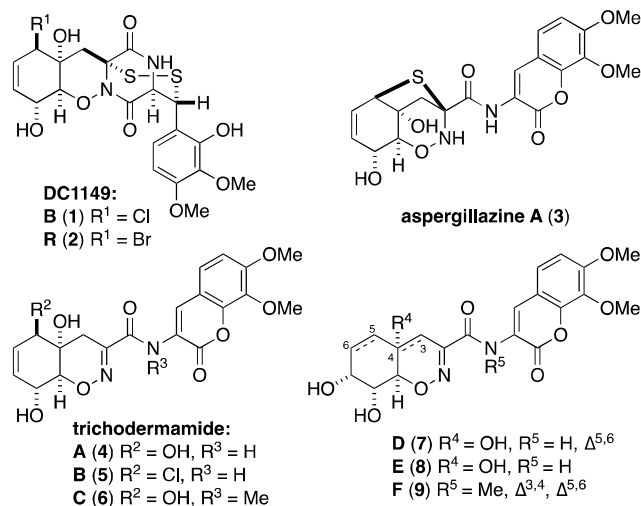


Figure 1. Chemical Structures of DC1149B and its Related Natural Products

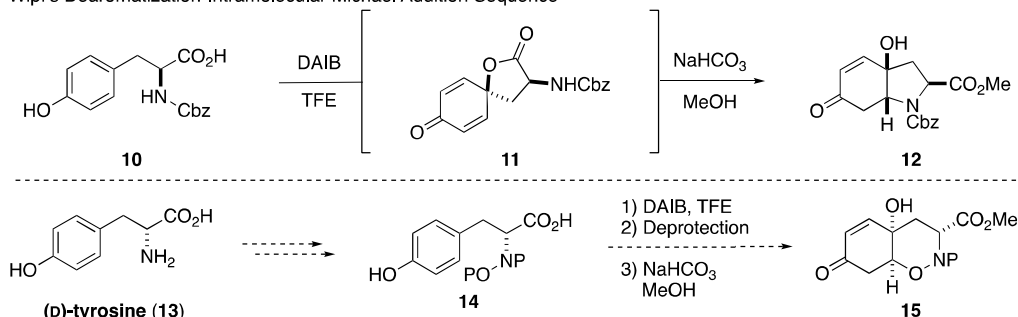
### 2. 研究の目的

本課題ではこの化合物群の創薬シーズとしての可能性を明確にすることを研究の推進力とし、次の二点を目的とした研究を遂行する。

- 1) DC1149B 及びその類縁体の短工程かつ網羅的な不斉合成を指向して、立体選択的な新規 *cis*-1,2-オキサザデカリン骨格構築法を開発する。
- 2) 上記の新規手法を基盤とし、共通合成中間体を経て DC1149B 及び類縁天然物を迅速かつ網羅的に合成し、構造活性相関研究を通じて生物活性発現に必須な化学構造を解明する。

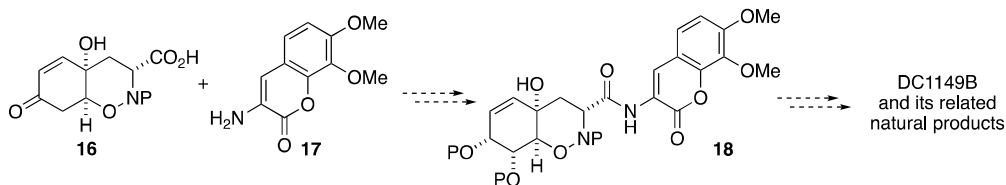
### 3. 研究の方法

Wipf's Dearomatization-Intramolecular Michael Addition Sequence



Scheme 1. Wipf's Oxidation-Michael Addition-Inspired *cis*-1,2-Oxazadecaline Synthesis

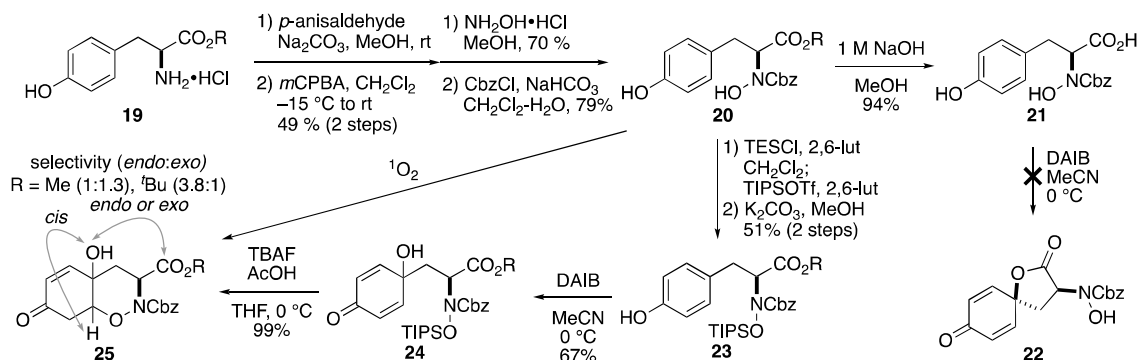
- 1) Wipf 等のチロシン誘導体 **10** の不斉を巧みに利用したワンポットでの酸化的脱芳香環化/oxy-Michael 付加反応を経るピロリジン **12** の合成に着想を得、チロシン (**13**) から誘導が可能と考えられるヒドロキシルアミン **14** の酸化的脱芳香環化、及び oxy-Michael 付加反応を経る光学活性な *cis*-1,2-オキサザデカリン骨格の新規構築法を開発する (**Scheme 1**)。



Scheme 2. Synthetic Plan of DC1149B and its Related Natural Products via Common Intermediate

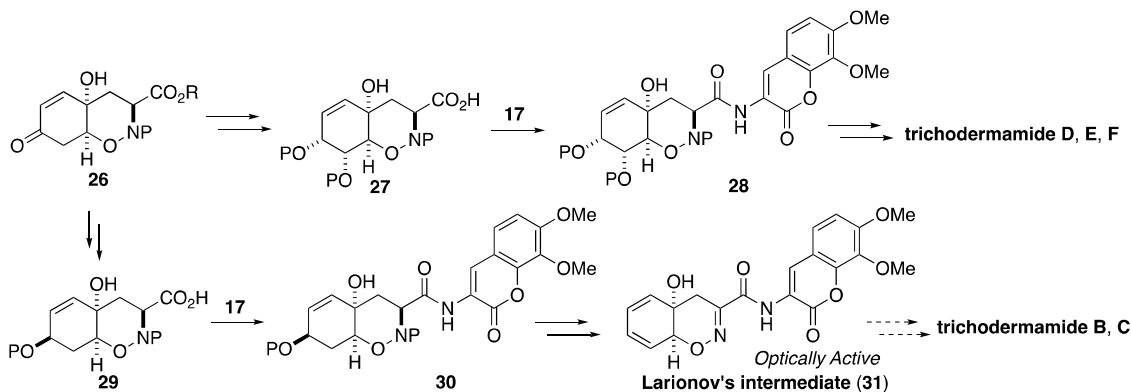
2) 上記の手法で合成した **15** を加水分解することでカルボン酸 **16** とした後、アミノクマリン誘導体 **17** と縮合し、次いで酸化及び還元反応を経ることで共通合成中間体の四環性アミド **18** を合成する。さらに、得られた**18** は種々の官能基変換を経て DC1149B 及びその類縁体へと導く (Scheme 2)。

#### 4. 研究成果



Scheme 3. Oxidative Dearomatization and Intramolecular oxy-Michael Reaction

まず、4工程を経てチロシンエステル **19** の窒素原子の酸化及び保護を行いヒドロキシルアミン **20** へ変換後、**20** のエステル部位の加水分解により酸化前駆体 **21** を合成した。しかしながら、次の望むフェノールの酸化的脱芳香環化は進行せず、スピロラクトン **22** は全く得られなかった。一方で、**20** の保護、及び脱保護を経て導いたフェノール **23** においては、所望の酸化反応が進行しヒドロキシジエン **24** が得られることを見出した。そこで、**24** における分子内 oxy-Michael 付加反応の詳細な条件検討を行い、基質一般性などの検討も経て、光学活性な *cis*-1,2-オキサザデカリンエノン **25** を得る新たな手法を確立した (*Tetrahedron Lett.* **61**, 151412. (2020))。過去の光学活性なトリコデルマミド類の合成では、*cis*-1,2-オキサザデカリン骨格の構築に 19工程を要していたが、本手法を用いることで、チロシンエステル **19** を出発原料として 8工程で目的の骨格を有するエノン **25** を合成することが可能となった。さらに、酸化的脱芳香環化の工程に化学選択性の高い一重項酸素を用いると、所望の酸化反応に次いで、分子内 oxy-Michael 付加反応が一挙に進行することを見出した。これにより、**20** を 1工程で直截的に **25** へ変換することに成功し、僅か 5工程で望みの *cis*-1,2-オキサザデカリン骨格を構築する手法を確立した。



Scheme 4. Enantioselective Synthesis of Trichodermaprimides

先で開発した手法を用いて合成したエノン **26** は水酸基の導入、エノンの立体選択的 1,2-還元等を経てカルボン酸 **27** へ変換した。得られた **27** はアミノクマリン誘導体 **17** と縮合することで四環性アミド **28** とした後、窒素原子の脱保護、オキシムエーテルへの酸化等を経てトリコデルマミド D、E 及び F へ導くことで、初の不斉合成を達成した (投稿準備中)。一方で、**26** のエノン部位の立体選択的 1,2-還元、及びエステルのカルボン酸への変換等を経てカルボン酸 **29** を合成後、再度アミノクマリン誘導体 **17** と縮合することで四環性アミド **30** とし、さらにアリールアルコール部位をジエンへ変換することで Larionov 等のトリコデルマミド B 及び C のラセミック中間体 **31** を光学活性体として得ることに成功し、トリコデルマミド B 及び C の形式不斉合成も合わせて達成した。また、現在のところ DC1149B の合成には至っていないが、構造活性相関研究により、グルコース飢餓環境選択的ながん細胞増殖阻害活性の発現には、エピジチオジケトピペ

ラジン骨格の必要性を示唆する結果を得ている。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Kimishima Atsushi, Saito Hayato, Yamaguchi Ayuta, Arai Masayoshi	4. 巻 61
2. 論文標題 A stereoselective construction of a cis-1,2-oxazadecaline skeleton using a substrate-controlled intramolecular oxy-Michael addition of tyrosine-derived hydroxylamines	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 151412 ~ 151412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1016/j.tetlet.2019.151412	査読の有無 有
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 Tang Rui, Kimishima Atsushi, Ishida Ryosuke, Setiawan Andi, Arai Masayoshi	4. 巻 74
2. 論文標題 Selective cytotoxicity of epidithiodiketopiperazine DC1149B, produced by marine-derived <i>Trichoderma lixii</i> on the cancer cells adapted to glucose starvation	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Journal of Natural Medicines	6. 最初と最後の頁 153 ~ 158
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1007/s11418-019-01357-w	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Atsushi Kimishima, Hayato Saito, Masayoshi Arai
2. 発表標題 An Efficient Method for the Construction of cis-1,2-oxazadecaline Skeleton and its Application to Formal Enantioselective Synthesis of trichodermamide B and C
3. 学会等名 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 君嶋敦、齊藤隼人、荒井雅吉
2. 発表標題 新規cis-1,2-オキサザデカリン骨格構築法を用いたtrichodermamide BおよびCの形式不斉合成
3. 学会等名 第61回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 君嶋敦、齊藤隼人、荒井雅吉
2. 発表標題 Trichodermamide BおよびCの形式不斉合成
3. 学会等名 第69回日本薬学会近畿支部総会・大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 君嶋敦、唐睿、石田良典、荒井雅吉
2. 発表標題 海洋由来天然物DC1149Bの栄養飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害活性
3. 学会等名 第22回日本がん分子標的治療学会学術集会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 君嶋敦、唐睿、石田良典、山口亞由太、荒井雅吉
2. 発表標題 海洋由来天然物DC1149Bの栄養飢餓環境選択的がん細胞増殖阻害活性と作用機序の解明
3. 学会等名 第60回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 君嶋敦、山口亞由太、荒井雅吉
2. 発表標題 DC1149Bの合成を指向した新規cis-1,2-オキサザデカリン骨格構築法の開発
3. 学会等名 第68回日本薬学会近畿支部大会
4. 発表年 2018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
--	---------------------------	-----------------------	----