

平成 21 年 5 月 20 日現在

研究種目：基盤研究 (C)  
 研究期間：2007～2008  
 課題番号：19580130  
 研究課題名 (和文) 強力な抗腫瘍活性を有するヘテロ環系天然物の合成化学的研究  
 研究課題名 (英文) Synthetic studies on heterocyclic natural products with a potent antitumor activity  
 研究代表者  
 高橋 俊哉 (TAKAHASHI SHUNYA)  
 独立行政法人理化学研究所・物質構造解析チーム・専任研究員  
 研究者番号：00202151

研究成果の概要：(1) 抗腫瘍活性バンレイシアセトゲニン類の合成研究を行い、構造未定であったモンタナシン D, E の合成を達成した。また、ピラニシンが DNA ポリメラーゼ、トポイソメラーゼ等の酵素の強力な阻害剤になることを見出した。(2) 腫瘍血管新生を阻害するテルペノイド (オバリシン、フマジリン) の効率的合成法を検討し、Sharpless 不斉酸化反応と分子内メタセシス反応を鍵段階とする短段階合成ルートを開発した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,500,000	450,000	1,950,000
2008年度	2,000,000	600,000	2,600,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学 生物生産化学・生物有機化学

キーワード：抗腫瘍活性、バンレイシアセトゲニン、DNA ポリメラーゼ、トポイソメラーゼ、分子間メタセシス、腫瘍血管新生、オバリシン

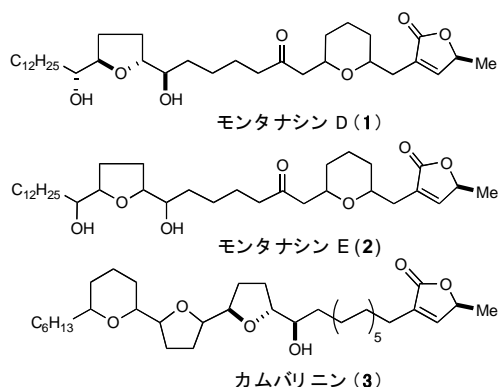
## 1. 研究開始当初の背景

(1) ミトコンドリアコンプレックスIに作用するバンレイシアセトゲニン類の合成研究

バンレイシ科植物を起源とするアセトゲニン類は、分子内に1-3個のテトラヒドロフラン環、複数個の水酸基を持つ長鎖脂肪酸由来の $\gamma$ -ラクトンである。これらは、ミトコンドリアコンプレックスIを強力に阻害することで、著しい抗腫瘍作用(アドリアマイシンの1万倍から10万倍ほど)を示すことから、次世代の抗がん剤のモデルとしても期待さ

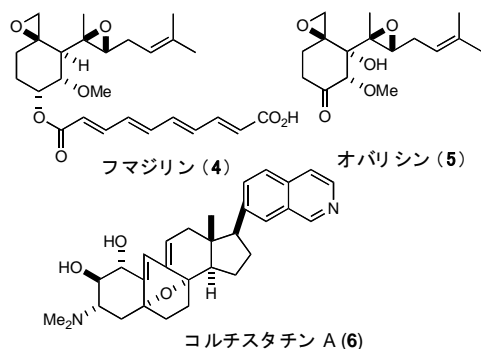
れ、米国を中心に極めて活発な研究が行われている。しかし、正常細胞に対する毒性も強い活性分離に向けた人口アナログの創製や、構造未定の天然物の構造決定、コンプレックスI阻害の詳細なメカニズム解明等がこの分野の重要な課題である。申請者は、数年来に渡り、420種以上も報告されているアセトゲニン類の中でも、わずか8種類しか知られていないテトラヒドロピラン環を持ったグループに着目し、それらの合成研究を行ってきた。この理由は、大多数のアセトゲニン類に比べて合成が困難であるため、それ

らをターゲットにすることで新規方法論や新反応の開発が期待できる点と、強い抗腫瘍活性に興味を引かれたためである。既に、5種類の天然物の全合成を達成し、1種は提出構造式の訂正に至っている。残された3種のアセトゲニン類（モンタナシン D (1), E (2), ならびにカムバリニン(3)）は、機器分析手法だけでは構造式の一部しか決定できず、全立体配置を含めた化学構造式の決定には合成化学的手法が必要であった。



#### (2) 腫瘍血管新生を阻害するテルペノイド・ステロイド類の合成研究

腫瘍血管新生は、原発巣および転移巣の癌細胞への酸素・栄養供給のために重要であるだけでなく、その形成された血管を通してさらなる癌の転移を引き起こすとも考えられる。それゆえ、血管新生の制御は血行性転移の阻止と密接に関係している。こういった観点から、血管新生阻害剤は有望な抗腫瘍剤になるばかりでなく、複雑な血管新生過程を解明するバイオプローブにもなりうると見なされ、幅広いスクリーニングが行われてきた。その結果、フマジリン (4)、オバリシン (5) そして最近ではコルチスタチン (6) 等が見出されてきた。近年、血管新生阻害療法が、癌や糖尿病網膜症をはじめとする病的血管新生を伴う疾病に対する治療法の一つとして非常に注目を集めているのに伴い、血管新生阻害剤の開発は、ますます重要な課題となってきた。



## 2. 研究の目的

天然起源の抗腫瘍活性物質あるいはそれらをモデルとしてデザインされた低分子化合物に、精密有機合成化学的手法を用いてアプローチし、生化学・医学領域へ強力なバイオプローブを提供することを最終的な目標としている。具体的には、

(1) ミトコンドリアコンプレックス I に作用するバンレイシアセトゲニン類 (1~3)、

(2) 腫瘍血管新生を阻害するテルペノイド・ステロイド類 (4~6)、

をターゲットとして取り上げ、当研究室で独自に開発された反応・方法論を駆使して全合成を達成する。さらに、構造活性相関研究を通して、その標的分子の探索のためのプローブ創製へ展開をはかる。

## 3. 研究の方法

### (1) ミトコンドリアコンプレックス I に作用するバンレイシアセトゲニン類の合成研究

モンタナシン類 (1,2)、カムバリニン (3) とともに右半分のラクトン部位と左半分の環状エーテル誘導体を別々に合成し最終段階でカップリングさせることにより合成しようと計画した。ラクトン部位は既に申請者らが開発した方法により構築し、環状エーテル誘導体はシャープレスの不斉酸化反応を利用して合成する。合成品は癌細胞に対する細胞毒性ならびに、ポリメラーゼ、トポイソメラーゼに対する作用を調べる。

### (2) 腫瘍血管新生を阻害するテルペノイド・ステロイド類の合成研究

フマジリン (4)、オバリシン (5) 合成上の問題点は、主に多官能基化されたシクロヘキサン環部分の構築に集約される。そこで、非天然型化合物の合成も可能なように不斉合成を基盤とし、分子内メタセシス反応を利用することで効率的な超短段階合成法の開発を行う。

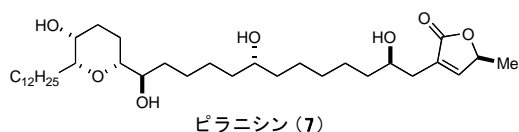
## 4. 研究成果

### (1) ミトコンドリアコンプレックス I に作用するバンレイシアセトゲニン類の合成研究

① テトラヒドロピランアセトゲニン類の DNA ポリメラーゼ、トポイソメラーゼ等に対する阻害作用

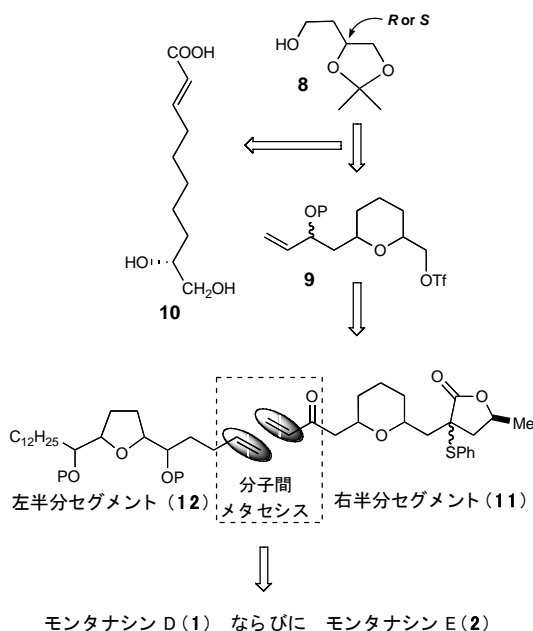
DNA ポリメラーゼ、トポイソメラーゼといった酵素を標的とした阻害剤は、有望な抗腫瘍剤になる可能性が高い。バンレイシアセトゲニン類は、癌細胞に対する細胞毒性の効果はよく調べられているが、こういった酵素に対する作用は報告されていなかった。そこで、申請者がこれまで合成したテトラヒドロピランアセトゲニンならびに、それらの立体異

性体を用いて、種々の生物起源のDNAポリメラーゼ、トポイソメラーゼおよび human cancer cell line, HL-60に対する阻害効果を調べた。その結果、モノテトラヒドロピランアセトゲニンの一種であるピラニシン(7)に強力な阻害作用のあることを見出した。詳細なバイオアッセイを行ったところ、化合物7は哺乳類ポリメラーゼに特異的に作用し、植物ポリメラーゼや微生物起源の酵素等には効果が少ないこと、さらにhumanトポイソメラーゼI, IIにも効果的であることを明らかにする事ができた。申請者は、強力なDNAポリメラーゼ阻害剤として芳香族系天然物も報告しているが、さらなる阻害剤の探索を目的として新規な炭素骨格を持つ*p*-テルフェニル系天然物の合成法も開発した。



## ②全合成によるモンタナシンD, Eの立体化学の決定と抗腫瘍活性

モンタナシンD (1), E (2)の不明である環状エーテル部分の立体化学を明らかにするため、提出されている構造式のすべての立体異性体が効率よく調製できる合成法を検討した。

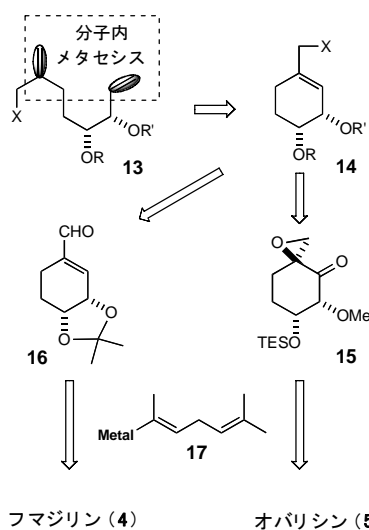


まず、リンゴ酸誘導体8から合成した不飽和エステル分子内共役付加を利用してテトラヒドロピランユニットの両対称体9を合成した。この合成研究の途上で得られた中間体は、ローヤルゼリー由来の新規カルボン酸

10の構造決定のための合成にも利用された。テトラヒドロピラン誘導体9はγ-ラクトンとのアルキル化を経て、ターゲット分子の右半分11に変換された。また左半分テトラヒドロピラン誘導体12はシャープレスの不斉酸化反応等を利用して合成された。これら左右のセグメントを分子間メタセシス反応によりカップリングさせて、モンタナシンD (1), E (2)の提出構造式に相当するすべてのジアステレオマー類を合成することに成功した。さらに、天然物がごく微量しか単離できなかったため活性試験が行えず不明であった抗腫瘍活性を、合成品を用いて調べた。その結果、興味深いことに、天然型の立体化学を持つ化合物が最も強い活性を示すことが分かった。今回合成された化合物群はさらなる生物活性を評価したり、ミトコンドリアコンプレックスIの機能解明のための有用なツールになることが期待できる。

## 2) 腫瘍血管新生を阻害するテルペノイド・ステロイド類

腫瘍血管新生を阻害するテルペノイド (フマジリン (4), オバリシン (5)) の短段階合成ルートを検討し、新規誘導体創製も可能な効率的合成法を開発した。



まず、市販のアリルアルコール誘導体から不斉酸化反応を利用してオレフィン化合物13を合成した。次いで、分子内メタセシス反応によってシクロヘキセン誘導体14とした。2重結合の酸化反応は立体選択的に進行し、望むジオールが得られた。このものからエポキシ環の構築を経て、鍵中間体のシクロヘキサノン誘導体15を合成した。ここで、アセトンのトシルヒドラゾン誘導体から調製した側鎖部17と反応させ、酸化を行うとオバリシン(5)の第二世代合成が達成できた。また

中間体14の保護基が異なる誘導体を同様にして合成し、一級水酸基を酸化すると文献既知のフマジリン合成中間体16が得られた。ここで開発された合成法は短段階かつ効率的であるので、フマジリン(4)ならびにオバリシン(5)をモデルとした多種多様なアナログ、ひいては新規な血管新生阻害剤の開発に極めて有利であると考えられる。

#### 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 5 件)

- ① Ye Y-Q., Koshino H., Onose J., Negishi C., Yoshikawa K., Abe N., Takahashi S., “Structural revision of thelephantin G by total synthesis and the inhibitory activity against TNF- $\alpha$  production”, *J. Org. Chem.*, **74**, DOI 10.1021/jo900638b (2009) 査読有.
- ② Tani H., Takahashi S., Hasumi K., Tatefuji T., Hongo Y., Koshino H., “Isolation of (*E*)-9,10-dihydroxy-2-decenoic acid from royal jelly and determination of the absolute configuration by chemical synthesis”, *Tetrahedron Asymmetry*, **20**, 457-460 (2009) 査読有.
- ③ Takahashi S., Hongo Y., Tsukagoshi Y., Koshino H., “Structural determination of montanacin D by total synthesis”, *Org. Lett.*, **10**, 4223-4226 (2008) 査読有.
- ④ Takahashi S., Yonezawa Y., Kubota A., Ogawa N., Maeda K., Koshino H., Nakata, T., Yoshida H., and Mizushima Y.: Pyranicin, a non-classical annonaceous acetogenin, is a potent inhibitor of DNA polymerase, topoisomerase, and human cancer cell growth”, *Int. J. Oncol.*, **32**, 451-458 (2008) 査読有.
- ⑤ Ye Y-Q., Koshino H., Onose, J., Yoshikawa K., Abe N., Takahashi S., “First total synthesis of vialinin A, a novel and extremely potent inhibitor of TNF- $\alpha$  production”, *Org. Lett.*, **9**, 4131-4134 (2007) 査読有.

[学会発表] (計 5 件)

- ① 叶躍奇, 小野瀬淳一, 吉川邦衛, 阿部尚樹, 越野広雪, 高橋俊哉, “Vialinin A関連化合物の合成研究”, 日本農芸化学会2009年度大会, 2009年3月, 福岡.

- ② 越野広雪, 高橋俊哉, 佐藤寛子, “CAST/CNMRシステムの構造訂正への応用(第3報)”, 日本農芸化学会2009年度大会, 2009年3月, 福岡.
- ③ 叶躍奇, 小野瀬淳一, 吉川邦衛, 阿部尚樹, 橋爪大輔, 越野広雪, 高橋俊哉, “強力なTNF- $\alpha$ 産生阻害活性を有する天然*p*-テルフェニル類の合成研究”, 第50回天然有機化合物討論会, 2008年10月, 福岡.
- ④ 高橋俊哉, “強力なTNF- $\alpha$ 産生阻害剤バイリニンAとその関連化合物の合成, 第1回理研ケミカルバイオロジー研究領域国際シンポジウム, 2008年9月, 熱海.
- ⑤ 高橋俊哉, “天然起源の抗腫瘍活性物質の化学合成”, 第4回ケミカルバイオロジーシンポジウム-化学-生物融合領域創製の軌跡-, 2008年2月, 熱海.

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

高橋 俊哉 (TAKAHASHI SHUNYA)

独立行政法人理化学研究所・物質構造解析チーム・専任研究員

研究者番号: 00202151