

令和 5 年 6 月 21 日現在

機関番号：32723

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05737

研究課題名(和文) 抗がん活性を有するジテルペン配糖体の合成および分子プローブ調製に関する研究

研究課題名(英文) Synthetic study of anti-cancer diterpene and its molecular probes

研究代表者

庄司 満 (Shoji, Mitsuru)

横浜薬科大学・薬学部・教授

研究者番号：30339139

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)：コチレニンA(1)は糸状菌から単離、構造決定されたジテルペン配糖体で、非常に興味深い抗がん活性を示す。また、1は細胞内のシグナル伝達に関与していると考えられ、疾病解明のためのツールになることが期待されている。しかし、生産菌の変異により、培養による供給が非常に困難となっている。研究代表者は、1のAおよびC環部セグメントを調製したのち、これらを連結し、続く閉環で8員環を形成した。しかし、その後の化学変換が困難であったことから、共役付加と続く分子間アルドール反応で、AおよびC環部のモデル化合物を連結した。また、ラセミ体アルコールの速度論的分割で、従来に比べ、より簡便なC環部合成ルートを開発した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然界には、非常に興味深い活性を持つが、天然資源にごく微量しか含まれていなかったり、生産菌の突然変異で入手が困難になる化合物が多く知られている。そのような場合、人工的に化学合成する手法が非常に有効である。研究代表者は、糸状菌が生産する抗がん活性化合物コチレニンAが、生産菌の突然変異で培養では入手困難であること、また合成が困難な化学構造を有する化合物であることに着目し、人工合成による供給を目指し、研究に着手した。本研究が達成されれば、新しい抗がん剤の開発につながることを期待される。

研究成果の概要(英文)：Cotylenin A is a diterpene glycoside possessing very high anti-cancer activity and unique 5-8-5 membered tricyclic aglycon. Unfortunately, the fungus producing cotylenin A mutated and never yields it.

We prepared A and C ring segments of cotylenin A and constructed B ring, but the tricyclic compound is unstable and easy to decompose. We chose another way to connect the A and C ring segment with conjugate addition followed by aldol reaction. Besides the coupling, more efficient synthetic route for the C ring segment was explored.

研究分野：有機合成化学

キーワード：ジテルペン 抗がん活性 配糖体 全合成

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

コチレニン A(1)は、*Cladosporium* 属の糸状菌から単離、構造決定されたジテルペン配糖体で、ヒト急性白血病細胞 HL-60 に対し分化誘導活性を有し(Asahi et al., *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1997**, *238*, 758)、1 とインターフェロン との併用で、卵巣がん細胞を移植したマウスの 60%以上が完全に治癒したうえ、副作用は観察されなかった(Honma et al., *Gynecol. Oncol.* **2005**, *99*, 680)。1 は、真核細胞生物に普遍的に存在する 14-3-3 タンパク質およびリン酸化タンパク質と三者会合体を形成し(Ottmann et al., *J. Mol. Biol.* **2009**, *386*, 913)、さらに 14-3-3 タンパク質と 2 対 2 の会合体(右図)を形成することから(Ottmann et al., *ACS Chem. Biol.* **2013**, *8*, 1869)、1 は細胞内のシグナル伝達に関与していると考えられ、疾病解明のためのツールになることが期待されている。コチレニン A (1) を分子プローブ化し、1 と結合するリン酸化タンパク質を同定できれば、がんのシグナル伝達に関し有用な知見が得られ、新規抗がん剤の標的タンパク質発見につながると期待される。さらに、1 の糖部位および母骨格の構造変化により、活性の強度および標的細胞の種類が異なることから、1 の構造活性相関研究の進展による、より強力な活性を有する化合物の創製が期待される。

コチレニン A (1)は、新規抗がん剤リード化合物および生化学研究用ツールとして需要が高まる一方、生産菌の変異により、現在は培養による供給が困難である。そのため、有機合成的手法による供給が切望されているが、高度に歪んだ 5-8-5 員環を有する母骨格および複雑な糖部位は合成の難易度が非常に高い。現在まで、1 の母骨格部分の合成が一例報告されているのみであり、化学合成による 1 の供給が急務である。

2. 研究の目的

コチレニン A(1)の供給は社会的要請度が高いものの、生産菌が変異し、本研究開始当初は 1 の全合成は報告されていなかった。唯一報告されているアグリコンの合成ルートは、炭素骨格構築後に段階的に酸素官能基を導入している。申請者は、より短工程での合成を目指し、全炭素骨格が調った 2 つのセグメントを調製し、これらを連結する独創的な計画を立案した。本手法が確立できれば、1 とその類縁体および分子プローブの供給が可能になり、生化学研究の進展と、新規医薬品のリード化合物の創出が期待され、非常に意義がある。

3. 研究の方法

申請者はこれまで、コチレニン A(1)の A 環部セグメントであるビニルスズおよび C 環部セグメントであるエノールトリフラートの合成に成功している。すなわち、リモネンオキドから誘導可能な文献既知のアルデヒドから、18 段階で A 環部ビニルスズを合成した。また、安価なシクロペンタノンから、ラセミ体アセテートの光学分割を経て、11 段階で C 環部エノールトリフラートをほぼ純粋な鏡像異性体として調製した。さらに、合成したビニルスズとエノールトリフラートを、パラジウム触媒を用いる Stille カップリングで連結し、生じたアルコールを酸化してケトアルデヒドに変換した。得られたケトアルデヒドを分子内 McMurry カップリングで閉環して B 環部 8 員環を構築し、1 の ABC 環部の全ての炭素骨格を有するトリエンの合成に成功した。

一方、容易に入手可能なグルコース誘導體から、保護基の変換とアルコールの酸化を経てジメチルアセタールに変換した。続いて、ヒドロキシラクトン形成を経由する 4 段階を経て、1 の糖部位に特徴的な構造を有するビスアセタールの構築に成功した。

本研究計画では、合成した ABC 環部に含まれる 3 つのアルケンのうち、最も立体障害が小さい二置換アルケンを、位置および立体選択的エポキシ化と開環、あるいはジヒドロキシ化と続く酸化-還元によるヒドロキシ基の立体化学反転により、*trans*-ジオールに誘導する。続いて、別途調製する糖部位をグリコシル化で導入し、コチレニン A(1)の全合成を達成する。コチレニン A(1)の全合成達成後は、合成ルート開発で得られた知見とドッキングシミュレーションによる予測を活用し、不斉炭素の立体化学を含めた骨格・置換基・糖の構造が異なる類縁体を種々合成するとともに、これら類縁体の生物活性評価を行う。

生物活性化合物に、標識として蛍光分子やビオチンを導入した分子プローブを調製する場合、生物活性化合物のどの部位に標識を導入するかが重要になる。コチレニン A(1)に類似した構造を有するフシコクシン A の構造活性相関研究から、1 における糖部位が有するメチル基の変換が、生物活性に最も影響が少ないと予想される(Honma et al., *Anticancer Agents Med. Chem.*, **2012**, *12*, 791)。本研究計画では、糖部位の合成時に予め変換可能な官能基を導入しておき、グリコシル化後に蛍光分子あるいはビオチンを導入する。がんのシグナル伝達機構解明および新規抗がん剤の受容体タンパク質同定を目的とする分子プローブとして、BODIPY およびビオチン誘導體を調製し、1 の作用機序を解明する。

4. 研究成果

研究代表者はこれまで、コチレニン A(1)の A 環部セグメントおよび C 環部セグメントの合成

に成功している。続いて、調製したこれら2つのセグメントを、パラジウム触媒を用いるクロスカップリングで連結したのち、閉環して8員環を形成し、1のABC環部骨格の構築に成功したものの、生成物は不安定で、その後の化学変換が困難であった。そこで新たに、A環部に側鎖を導入したのちに同一フラスコ内でC環部と連結させる、三成分連結反応を検討した。現在までのところ、モデル化合物を用い、収率は中程度であるものの、ジアステレオ選択的に炭素-炭素結合形成反応が進行することを確認した。

また、従来のC環部セグメントの合成は工程数が多く、大量供給にやや難点があることから、より簡便な合成ルートの開発を目指し、リパーゼを用いたラセミ体アルコールの速度論的分割を行い、ほぼ完全な鏡像体過剰率のC環部セグメントを用いて、上記の三成分連結反応が進行することを確認した。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 梅沢岬, 平濱俊哉, 庄司満
2. 発表標題 光酸化還元反応を用いる, α -不飽和カルボン酸への直截的1,4-付加およびアクリジン類縁体の触媒能の評価
3. 学会等名 第65回日本薬学会関東支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 梅沢岬, 川瀬美咲, 奥野義規, 佐藤康夫, 青木昭, 鰐淵清史, 庄司満
2. 発表標題 光酸化還元反応を用いる, α -不飽和カルボン酸への直截的1,4-付加および固相光触媒の開発
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 山口舞佳, 庄司満
2. 発表標題 可視光を用いるベンジル位の酸化的エーテル化に関する研究
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 鰐淵清史, 梅沢岬, 池田航, 庄司満
2. 発表標題 光酸化還元反応を用いたセサミン類の合成
3. 学会等名 日本化学会 第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柳澤菜穂, 山口舞佳, 庄司満
2. 発表標題 有機分子触媒を用いた可視光エステル化の開発
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2022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