

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 22 日現在

機関番号：32684

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2015

課題番号：25860015

研究課題名(和文)新規作用機序に基づく抗がん剤の創製を目指した天然物の合成および構造活性相関研究

研究課題名(英文) Structure-anticancer activity relationship study of natural product and its derivatives with a novel mechanism of action

研究代表者

小林 健一 (Kobayashi, Kenichi)

明治薬科大学・薬学部・助教

研究者番号：30639282

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：Phaeosphaeride Aは、2006年にClardyらのグループにより内部感染性の真菌から単離された含窒素天然物であり、STAT阻害活性を有することが報告されている。STAT3は転写制御因子の一つであり、種々の腫瘍細胞において恒常的に活性化していることが知られているため、STAT3阻害剤による抗がん作用の発現が期待される。本研究によりphaeosphaeride Aの全合成経路を確立し、これまで不明であった本天然物の全立体構造を明らかにした。またphaeosphaeride Aのエナンチオマー、ジアステレオマー、および数種の人工類縁体を合成し、構造活性相関研究に必要なサンプルを得た。

研究成果の概要(英文)：Phaeosphaeride A, a natural product isolated from an endophytic fungus in 2006, inhibits the STAT3-dependent signaling. Thus, this natural product is expected to be a seed compound for developing an anticancer chemotherapeutic agent. In this study, first total synthesis of phaeosphaeride A was achieved, and its stereostructures including the relative and absolute configurations were established. Its enantiomer, diastereomer, and some artifacts were also prepared for the structure-activity relationship study.

研究分野：有機合成化学

キーワード：Phaeosphaeride A 天然物の全合成 抗がん剤 構造活性相関

様式 C-19、F-19、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

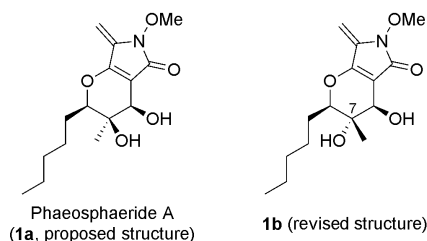
がんは死亡率が高い疾患の一つであり、新しいタイプの抗がん剤の開発が切望されている。抗がん剤開発のための有機化学的アプローチとして、天然有機化合物をリードとする創薬研究が古くから活発に展開されてきた。近年では特に、天然のハリコンドリノ B の構造を元に見出された新規抗がん剤エリプリンの開発は、有機合成化学の力量を示した好例である。

従来の抗がん剤は、DNA やチューブリンなどに作用する細胞毒性物質が主流であったが、近年、分子標的抗がん剤が盛んに研究されている。その中でも特に、STAT3 (Signal Transducer and Activator of Transcription 3) は、抗がん剤開発のための標的タンパク質として注目を集めている。

2. 研究の目的

Phaeosphaeride A (**1a**) は 2006 年に Clardy らによって単離された含窒素天然物であり、STAT3 依存性の多発性骨髄腫細胞 U266 の成長を *in vitro* で阻害すると報告されている。STAT3 は転写制御因子の一つであり、種々の腫瘍細胞において恒常的に活性化していることが知られているため、phaeosphaeride A (**1a**) は新規抗がん剤のリード化合物として期待される。

研究代表者らは、過去に phaeosphaeride A の提出構造 (**1a**) の全合成を達成しており、その提出構造が誤りであることを明らかにした。天然物と合成品との NMR スペクトル等の比較から、天然物は合成品の C7 位エピマー体 (**1b**) である可能性が示唆された。

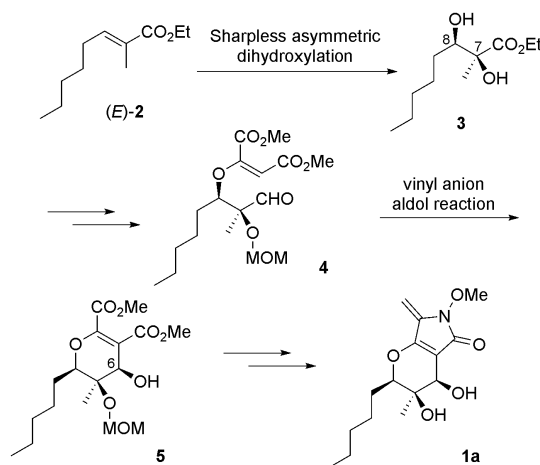


そこで本研究では、phaeosphaeride A の全合成を行い、本天然物の相対及び絶対立体配置を含む真の構造を決定することを目的とした。また、新規抗がん剤のリード化合物として期待される phaeosphaeride A の構造活性相関を明らかにするため、活性評価に供する各種誘導体を合成する。

3. 研究の方法

(1) Phaeosphaeride A の全合成

Phaeosphaeride A の訂正構造 (**1b**) の全合成は、以下に示す以前行った **1a** の合成を参考に進める。すなわち、 $\alpha,\beta$ -不飽和エステルに対する Sharpless 不斉ジヒドロキシ化による C7 及び C8 位の不斉中心の導入、及びビニルアニオンアルドール反応によるジヒドロピラン環構築を鍵とするルートを検討する。



(2) 構造活性相関研究に向けた各種誘導体の合成

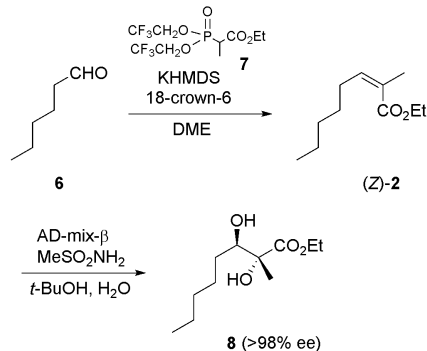
Phaeosphaeride A の各種誘導体については、上記(1)に示した天然物の合成ルートを基盤として合成を行う。

4. 研究成果

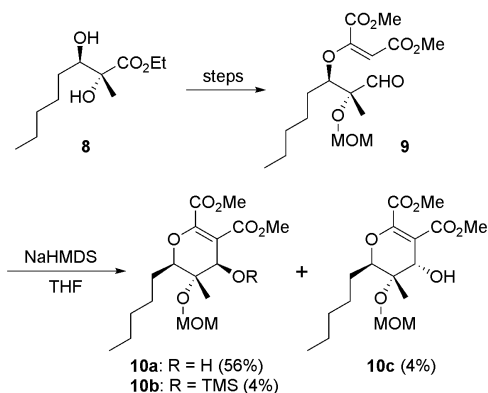
(1) Phaeosphaeride A の全合成

Phaeosphaeride A の提出構造 (**1a**) とその訂正構造 (**1b**) の違いは C7 位の立体配置のみである。**1a** の合成において C7 位の立体配置は、*E* 体の  $\alpha,\beta$ -不飽和エステル (**E-2**) に対する Sharpless 不斉ジヒドロキシ化で制御しているため、*Z* 体のエステルを用いて同様の反応を行えば、最終的に C7 位エピマー体 **1b** の合成が可能になると考えられる。

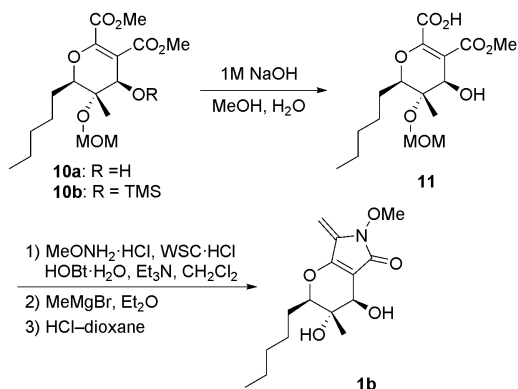
そこでまず、Still-Gennari タイプの試薬 **7** を合成して Horner-Wadsworth-Emmons 反応を行ったところ、望む *Z* 体の  $\alpha,\beta$ -不飽和エステル (**Z-2**) を単一の異性体として得ることができた。続いて AD-mix- $\beta$  を用いた Sharpless 不斉ジヒドロキシ化により、98% ee 以上のジオール **8** を得た。



ジオール **8** を数段階の変換でアルデヒド **9** へと誘導した後、塩基として NaHMDS を用いたビニルアニオンアルドール反応により、目的物 **10a** 及びその TMS エーテル体 **10b** を得ることに成功した。これにより、**1b** の合成に必要な連続する 3 つの不斉中心を揃えることができた。なお、本反応の収率及び立体選択性を向上させるべく、塩基の種類や反応条件等について種々検討を行ったが、改善はできなかった。

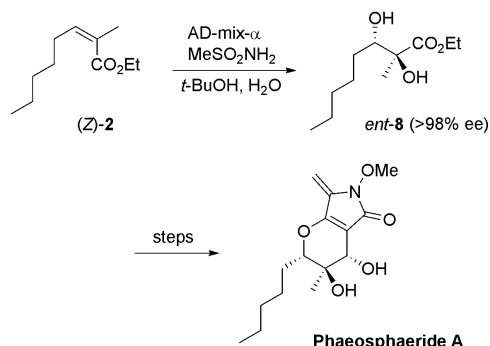


得られた **10a** 及び **10b** の一方のエステルのみを位置選択的に加水分解した後、マレイミド化、続くエキソメチレン化と脱保護により目的の **1b** を合成することに成功した。



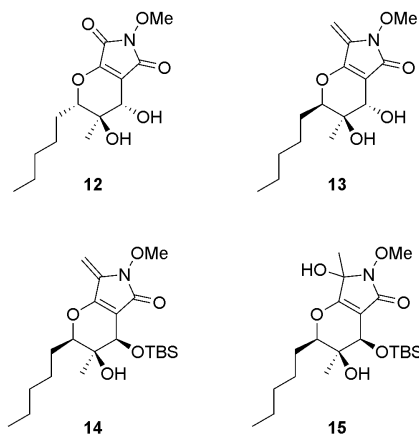
合成した化合物 **1b** と天然物は、<sup>1</sup>H および <sup>13</sup>C NMR とともに非常に良い一致を示したため、天然物の相対立体配置を決定することができた。また、合成品 **1b** の比旋光度の符号は天然物と逆であったことから、天然の phaeosphaeride A は、**1b** のエナンチオマーであると決定できた。なお、最近になり phaeosphaeride A の X 線結晶構造解析が報告され、今回決定した phaeosphaeride A の構造が正しいことが証明された。

また上記の合成ルートに準拠し、phaeosphaeride A の全合成も行った。すなわち、(Z)-**2** に対して AD-mix- $\alpha$  を用いた Sharpless 不斉ジヒドロキシ化によりジオール **8** のエナンチオマー *ent*-**8** を合成した後、同様の変換を行うことで phaeosphaeride A の初の全合成を達成した。



## (2) 構造活性相関研究に向けた各種誘導体の合成

天然物の合成ルートを基盤として、各種誘導体の合成を行った。例えば、マレイミド誘導体 **12**、ジアステレオマー **13**、6 位ヒドロキシ基保護体 **14**、ヘミアミナル体 **15** などの誘導体を合成できた。しかしながら、合成の初期段階で用いる Still-Gennari タイプの試薬 **7** の大量合成が困難であることや、試薬 **7** を用いた Horner-Wadsworth-Emmons 反応の収率が安定しなかったため、活性評価用サンプルの量的供給の面では課題が残った。



今後は、多種多様な誘導体合成を行い、STAT3 を指標とした腫瘍細胞増殖阻害活性を評価し、phaeosphaeride A の構造活性相関を明らかにしたい。

## 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 2 件)

1. Establishment of Relative and Absolute Configurations of Phaeosphaeride A: First Total Synthesis of *ent*-Phaeosphaeride A  
Kenichi Kobayashi, Yukiko Kobayashi, Misato Nakamura, Osamu Tamura, Hiroshi Kogen, *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 1243–1248.  
DOI: 10.1021/jo5025046  
(査読有り)
2. Studies Toward the Second Generation Synthesis of Epolactaene: Highly Stereoselective Construction of Epoxy- $\gamma$ -Lactam Moiety  
Kouta Tajima, Yoshifumi Umehara, Kenichi Kobayashi, Hiroshi Kogen, *Synlett.* **2014**, *25*, 2337–2340.  
DOI: 10.1055/s-0034-1378562  
(査読有り)

[学会発表](計 20 件)

1. Darzens 縮合を用いた epoxy- $\gamma$ -lactam 環の効率的合成法の開発：田中耕作三世，小林健一，古源寛，日本薬学会第 136 年会，2016 年 3 月 26-29 日，パシフィコ横浜(神

- 奈川県横浜市)
2. 光学活性な 2 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -二置換インドールの新規合成法の開発: 五江洙祐太, 春田雄太郎, 小林健一, 古源寛, 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 3 月 26-29 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)
  3. DGAT-1 阻害剤のデザイン, 合成, 及び活性評価: 松下航平, 平野遼太郎, 森若菜, 郡司幸恵, 小林健一, 古源寛, 若杉昌輝, 広野修一, 白波瀬弘明, 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 3 月 26-29 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)
  4. 抗菌活性物質 biverlactone C の全合成研究: 桑原佳祐, 小林健一, 古源寛, 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 3 月 26-29 日, パシフィコ横浜 (神奈川県横浜市)
  5. Relative and Absolute Configuraitons of Phaeosphaeride A: Total Synthesis of *ent*-Phaeosphaeride A  
Kenichi Kobayashi, Yukiko Kobayashi, Misato Nakamura, Osamu Tamura, Hiroshi Kogen, PACIFICHEM 2015, 2015, December 15-20, Honolulu (USA)
  6. Phaeosphaeride A の相対および絶対立体配置の決定: 小林健一, 小林夕貴子, 中村美里, 田村修, 古源寛, 日本薬学会第 135 年会, 2015 年 3 月 25-28 日, デザイン・クリエイティブセンター神戸 (兵庫県神戸市)
  7. sp<sup>2</sup> C-Br/C-H 型クロスカップリング反応を利用した Bractelactone の全合成研究: 小林健一, 中村美里, 高橋恵美, 古源寛, 日本薬学会第 135 年会, 2015 年 3 月 25-28 日, デザイン・クリエイティブセンター神戸 (兵庫県神戸市)
  8. DGAT-1 阻害に基づく糖尿病治療薬の合成研究: 森若菜, 平野遼太郎, 郡司幸恵, 小林健一, 古源寛, 若杉昌輝, 広野修一, 白波瀬弘明, 日本薬学会第 135 年会, 2015 年 3 月 25-28 日, デザイン・クリエイティブセンター神戸 (兵庫県神戸市)
  9. *ent*-Phaeosphaeride A の全合成: 小林健一, 小林夕貴子, 田村修, 古源寛, 第 58 回日本薬学会関東支部大会, 2014 年 10 月 4 日, 昭和薬科大学 (東京都町田市)
  10. First Total Synthesis of *ent*-Phaeosphaeride A  
Kenichi Kobayashi, Yukiko Kobayashi, Osamu Tamura, Hiroshi Kogen, The 24th French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry, 2014, September 14-17, Lyon (France)
  11. Synthetic Studies on L-755,807, a Non-Peptide Bradykinin Antagonist  
Kosaku III Tanaka, Kenichi Kobayashi, Hiroshi Kogen, The 24th French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry, 2014, September 14-17, Lyon (France)
  12. Phaeosphaeride A の全合成研究: 小林健一, 田村修, 古源寛, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 27-30 日, 熊本市総合体育館 (熊本県熊本市)
  13. エポチロン D の全合成研究: 鈴木詩織, 橋本昭吾, 小林健一, 古源寛, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 27-30 日, 熊本市総合体育館 (熊本県熊本市)
  14. 2 $\alpha$ ,2 $\alpha$ -二置換インドールの新規合成法の開発: 春田雄太郎, 北野翔大, 小林健一, 古源寛, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 27-30 日, 熊本市総合体育館 (熊本県熊本市)
  15. 神経突起伸長誘導物質エポラクタエンの第二世代合成法の開発研究: 田島広大, 梅原義史, 中田亜紀子, 小林健一, 古源寛, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 27-30 日, 熊本市総合体育館 (熊本県熊本市)
  16. 糖尿病治療薬を指向した DGAT-1 阻害剤のデザイン, 合成及び活性評価: 平野遼太郎, 小林健一, 古源寛, 若杉昌輝, 広野修一, 國代一祥, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 27-30 日, 熊本大学工学部 2 号館 (熊本県熊本市)
  17. L-755,807 の全合成研究: 田中耕作三世, 小林健一, 古源寛, 日本薬学会第 134 年会, 2014 年 3 月 27-30 日, 熊本大学全学教育棟 (熊本県熊本市)
  18. ジアシルグリセロールアシル基転位酵素-1 阻害剤の Ligand-Based Drug Design: 若杉昌輝, 合田浩明, 平野遼太郎, 小林健一, 古源寛, 広野修一, 第 41 回構造活性相関シンポジウム, 2013 年 11 月 7-8 日, 関西学院会館 (兵庫県西宮市)
  19. Total synthesis and biological evaluations of an aplyronine A-mycalolide B hybrid  
Kenichi Kobayashi, Hiroshi Kogen, Ichiro Hayakawa, Hideo Kigoshi, 1st European Conference on Natural Products, 2013, September 22-25, Frankfurt (Germany)
  20. Studies toward the total synthesis of L-755,807  
Kosaku III Tanaka, Kenichi Kobayashi, Hiroshi Kogen, The 23rd French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry, 2013, May 12-15, ANA CROWN PLAZA NAGASAKI GLOVERHILL (Nagasaki)
6. 研究組織
- (1) 研究代表者  
小林 健一 (KOBAYASHI KENICHI)  
明治薬科大学・薬学部・助教  
研究者番号: 30639282