

## 論文の内容の要旨

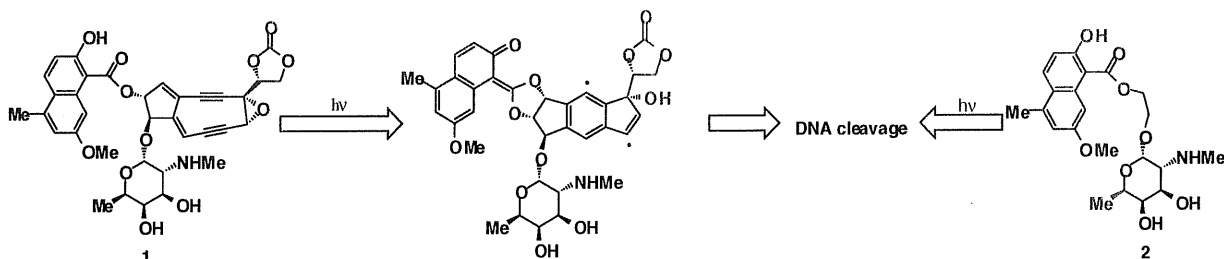
応用生命化学専攻  
平成13年度博士課程入学  
氏名 高井 茂樹  
指導教官 北原 武

### 論文題目 抗腫瘍性を指標とした生物活性物質の合成研究

現在に至ってもなお、ガンは健康で幸せな生活を送ることを阻む人類の大きな難題である。臨床の現場では効果的かつ副作用の少ない抗がん剤が待ち望まれている一方、そういった高いレベルでの需要を満たすのは現在でも非常に難しい。これまでにさまざまな機構で作用する抗腫瘍性を示す化合物が見いだされてきた。これらの化合物を合成的手法を用いて改変することによって新たな知見が得られてきて、その中からガンを克服する可能性が出てくると期待される。本研究においては特異な抗腫瘍性作用を有する2種類の天然物に着目し、これらの合成研究およびその活性評価を行った。

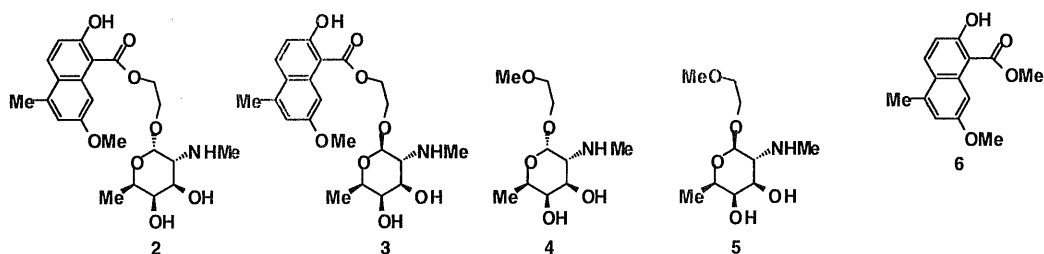
#### 1 抗腫瘍性抗生物質ネオカルチノスタチン・クロモフォアをモデルとした新規DNA切断分子の設計、合成および機能評価<sup>1)</sup>

抗腫瘍性抗生物質ネオカルチノスタチン・クロモフォア (1) は生体内のグルタチオンなどのチオール存在下、エンジン部分が芳香化する際に活性種のラジカルを生じ、これがDNAのチミンとアデニンを切断することが知られている。1989年、京都大学の杉浦らはネオカルチノスタチンが照射下、DNAのチミン、アデニンに加え、グアニンも切断することを見いだした<sup>2)</sup>。その後、東北大学の平間らは照射下エンジン部分が芳香化した化合物を単離し、1が照射下においても同様の機構でDNAを切断すると提唱した<sup>3)</sup>。しかし、照射下においてのみグアニンが切断される理由については明らかにされていなかった。著者はネオカルチノスタチン・クロモフォアの照射下のDNA切断機構には、平間らが提唱した機構以外のエンジンが関与しない別の作用が存在するのではないかと考えた。そこで主たる活性発現部位と考えられているエンジン部分の欠落した化合物2のような誘導体を合成し、そのDNA切断活性評価を行うこととした。

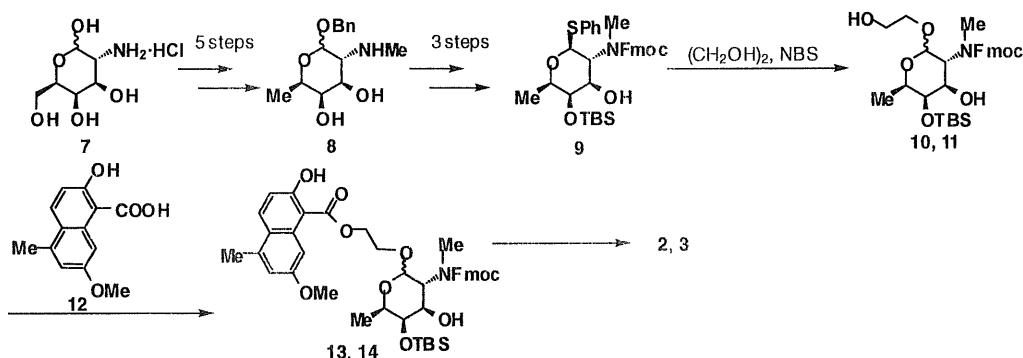


すなわち誘導体 **2** は、芳香環部分が DNA 塩基対間に挿入されやすく、また糖部分は DNA の狭い溝と高い親和性を有する可能性がある。また化合物 **2** の置換ナフタレン環に直結した C=O 結合は光によって励起されラジカルのような活性種となり DNA を切断する可能性があるのではないかと考えた。

この仮説を検証するために、以下に示す五つの化合物を設計し、合成した。すなわち先に示した **1** の糖および芳香族カルボン酸部分をエチレングリコールでつないだ化合物 **2**、化合物 **2** のアノマーである化合物 **3**、化合物 **1** の構成糖およびリンカー部分に相当する化合物 **4** およびそのアノマーに相当する化合物 **5**、芳香族カルボン酸エステル部分に相当する化合物 **6** をそれぞれ合成することとした。



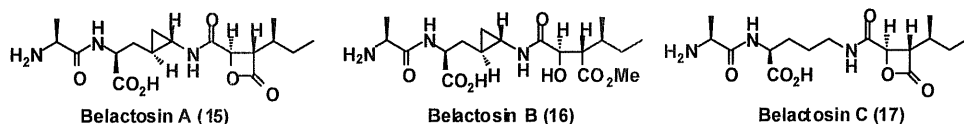
D-ガラクトサミン塩酸塩 (**7**) を出発原料としてアミノ基およびアノマー位の保護、一級水酸基を還元することによって、6位がデオキシ化された N-メチル-アミノグリコシド **8** を得た。これをチオグリコシド **9** へと変換後、エチレングリコールと NBS を用いてグリコシル化し、 $\alpha$ -体 **10** および  $\beta$ -体 **11** を極めて良好な収率で得た。**10**、**11** を文献既知の方法<sup>4)</sup> にしたがって別途合成した芳香族カルボン酸 **12** とエステル化した後、脱保護し目的化合物 **2** および **3** を得た。また中間体 **9** から **4**、**5** も合成した。



得られた化合物 **2**、**3**、**4**、**5**、**6** の DNA 切断活性評価は超らせん状の  $\Phi$ X174 DNA を用いて行った。その結果、光照射下、化合物 **2** および **3** は DNA を一本鎖切断し、開環型の DNA に変換していることを見出した。一方化合物 **4**、**5**、**6** は DNA 切断活性を示さず、「糖—芳香環」複合型構造が活性に寄与していることが示唆された。また化合物 **2** の方が化合物 **3** よりも強い活性を示したことから糖のアノマー位の立体化学が活性に寄与していることがわかった。DNA 切断活性のあった化合物 **2** および **3** について Sanger の方法にしたがって切断位置を同定したところ、グアニン選択的に切断されていることが判った。この結果、ネオカルチノスタチン・クロモフォアの DNA 切断部位と考えられていたエンジンを持たない誘導体が DNA を切断し、その切断位置がグアニン選択的であったことから、平間らが提唱したものとは異なる機構による新たな DNA 切断がネオカルチノスタチン・クロモフォアに存在する可能性が示唆された。

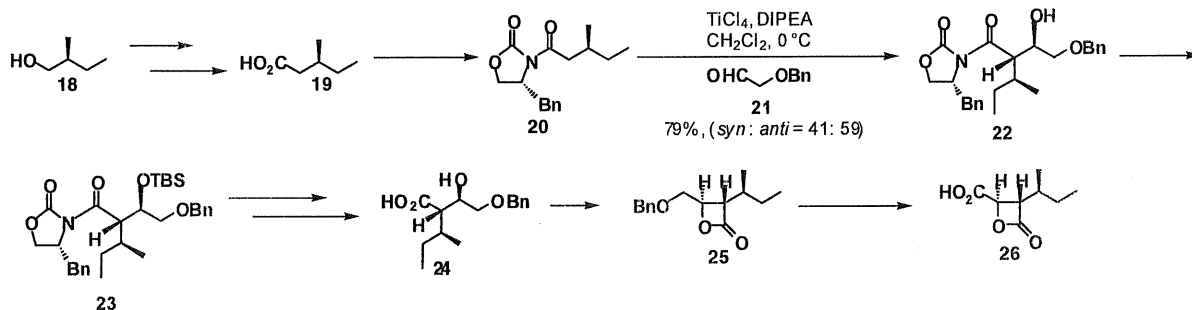
## 2 細胞周期阻害剤ベラクトシン類の合成研究

近年、多数の低分子化合物を用いた研究によって、細胞周期の調節機構がサイクリン Cdk 複合体によるという知見が得られ、しだいに細胞周期の調節の仕組みが解明されるようになってきた。ガン細胞ではこの調節機構の一部が壊れ、細胞が無秩序に増殖する状態となっている。そのため細胞周期を停止させるような薬剤は有用な抗ガン剤になりうると考えられる。ベラクトシン A、B、C は 2000 年に協和発酵工業 (株) の浅井、長谷川らによって、神奈川県 of 土壌より採取された微生物 *Streptomyces* sp. KY11780 の培養液より細胞周期阻害剤として単離、構造決定された化合物である<sup>5)</sup>。

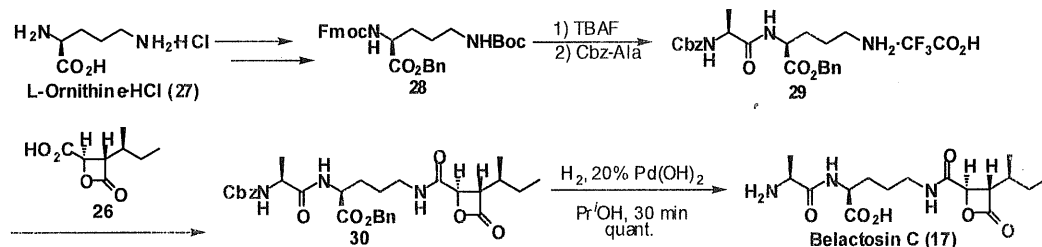


ベラクトシン A と C は細胞増殖阻害活性を示すが、ベラクトシン B は活性を示さないことから  $\beta$ -ラクトン構造が活性に寄与しているものと考えられる。またベラクトシン A および B の構成アミノ酸には、新規異常アミノ酸である 3-(2-Aminocyclopropyl)alanine (AcpAla) が含まれている。著者はベラクトシン類の構造と活性に興味を持ち、合成研究に着手することとした。ベラクトシン類はそのアミド結合を開裂させることにより、3 ユニットにわけて合成することができると考えられた。まず比較的構造が単純であるが、 $\beta$ -ラクトンを有するベラクトシン C から合成することとした。

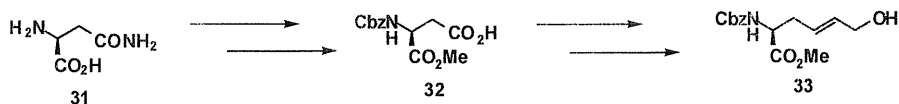
森らの方法<sup>6)</sup>にしたがい、光学活性なアルコール **18** より (S)- $\beta$ -メチル吉草酸 (**19**) を得た。これを Evans の不斉補助基と縮合させた後、グリコールアルデヒドユニット **21** とのアルドール反応を種々検討した結果、四塩化チタンを用いたときのみ立体選択性は高くないものの (*syn* : *anti* = 41 : 59) 良好な収率で望む立体のアルドール生成物 **22** を得ることができた。加水分解により不斉補助基をはずし、ヒドロキシカルボン酸 **24** へと変換した。さらに分子内でラクトン環を形成後、脱保護、酸化の段階を経て、鍵中間体である  $\beta$  ラクトン **26** を得た。



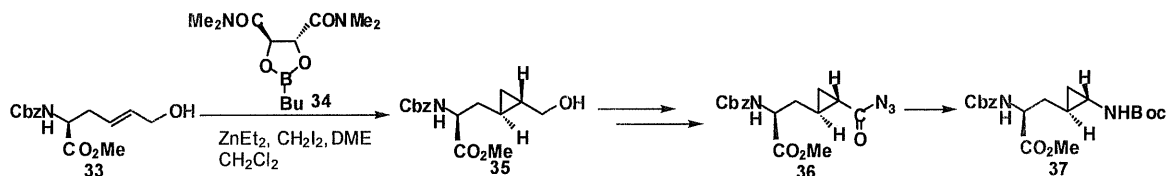
アミノ酸ユニットは、L-オルニチンと L-アラニンから出発し、右ユニットと結合後に  $\beta$ -ラクトンを開環させないためにベンジル系保護基を用いることとした。保護された L-オルニチン (**28**) を Cbz アラニンと縮合させ、続いてラクトン **26** との縮合により **30** を得た。最終工程の加水素分解では  $\beta$ -ラクトンの開環を避ける条件設定が必要であったが、ラクトン環を壊すことなくベラクトシン C を合成することができた。総収率は 13 工程 5.7% であった。



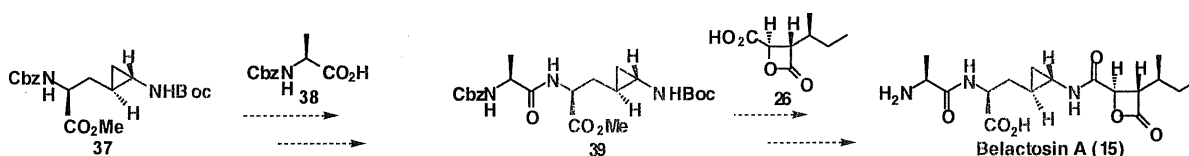
このベラクトシン C の合成研究で得た知見を参考にベラクトシン A の合成を行うこととした。シクロプロパン環を含む新規異常アミノ酸の合成に成功すれば、ベラクトシン C と同様に各ユニットをつなげていくことで合成できるものと考えた。新規異常アミノ酸 (AcpAla) 合成にあたり、出発原料に L-アスパラギンを用い、既知の合成法<sup>7) 8)</sup> を一部改良してアリルアルコール **33** を得た。



得られたアリルアルコール **33** を用いて Charett の不斉 Simmons-Smith 反応を行ったところ良好な選択性でシクロプロパン環の構築に成功し、化合物 **35** を得た。これを酸化しカルボン酸とした後、混合酸無水物を經由しアシリアジドを **36** を得た。**36** をトルエン中加熱し Curtius 転位反応を行った。転位反応で生じるイソシアナートを捕捉するアルコールについても検討したが最終的に *tert*-ブチルアルコールを用いることとし、**37** を良好な収率で得た。



現在、得られた化合物 **37** の脱保護、アラニンユニットとのカップリングおよびβ-ラクトンとのカップリングを検討中である。



まとめ

抗腫瘍性抗生物質ネオカルチノスタチン・クロモフォアは光照射下、DNA 切断活性を示すがその際、切断部位がチオールを添加した際の切断部位と異なっていた。この理由は主たる活性発現部位であるエンジン部分以外にも、発現部位があるものと仮説を立て、エンジン部位のない誘導体を合成したところ、グアニン選択的に DNA を切断することを見いだした。これにより天然物のネオカルチノスタチン・クロモフォアにエンジンの関与しない DNA 切断機構が存在する可能性が示唆された。

ベラクトシン類には特異な構造と興味深い活性がみられる。これらの構造活性相関を調べるには、立体選択的な不斉の構築および充分な量を供給可能な合成法の確立が必要であった。本合成研究においてはラクトン環の効率的な合成法、新規異常アミノ酸の立体選択的な合成法を確立し、またベラクトシンCの合成を達成した。今後、ベラクトシンAの合成も行うとともに、各種誘導体合成により構造活性相関を明らかにしていく予定である。

## References

- 1) Toshima, K.; Takai, S.; Maeda, Y.; Takano, R.; Matsumura, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2000**, *39*, 3656-3658.
- 2) Uesawa, Y.; Kuwahara, J.; Sugiura, Y. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1989**, *164*, 903-911.
- 3) Gomibuchi, T.; Hiram, M. *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 738-740.
- 4) Takahashi, K.; Suzuki, T.; Hiram, M. *Tetrahedron Lett.* **1992**, *33*, 4603-4604.
- 5) Asai, A.; Hasegawa, A.; Ochiai, K.; Yamashita, Y.; Mizukami, T. *J. Antibiot.* **2000**, *53*, 81-83.
- 6) Mori, K.; Kamada, A.; Kido, M. *Liebigs Ann. Chem.* **1991**, 775-781.
- 7) Garrard, E.; Borman, E.; Cook, B.; Pike, E.; Alberg, D. *Org. Lett.* **2000**, *2*, 3639-3642.
- 8) Adams, D.; Bailey, P.; Collier, I.; Heffernan, J.; Stokes, S. *Chem. Commun.* **1996**, 349-350.