

## 研究成果概要

## 1. 研究課題

和文 細胞毒性含臭素ポリエーテル類の作用機構解明に関する研究
英文 Study for Mechanism Elucidation of Cytotoxic Bromine-Containing Polyethers

## 2. 申請者名（代表研究者）

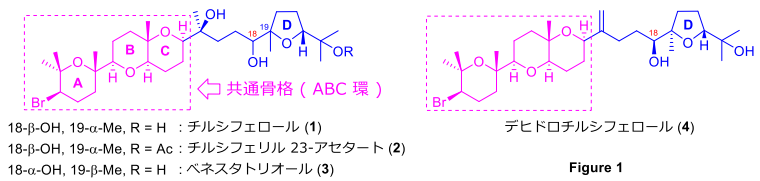
氏名 西川 慶祐	ローマ字表記 Keisuke Nishikawa
所属大学・機関名 大阪市立大学・理学部 化学科	英訳表記 Department of Chemistry, Faculty of Science, Osaka City University
研究科専攻名・部課名等 大学院理学研究科 物質分子系専攻	英訳表記 Molecular Materials Science Course, Graduate School of Science
役職名 専任講師	英訳表記 Lecturer

## 3. 共同研究者（下段 英訳表記）

氏名	所属機関名・研究科等名・役職
（氏名） 森本 善樹	大阪市立大学 理学部 化学科 / 大学院理学研究科 物質分子系専攻・教授
（英訳表記） Yoshiki Morimoto	（英訳表記） Department of Chemistry, Faculty of Science / Molecular Materials Science Course, Graduate School of Science, Osaka City University・Professor
（氏名） 熊谷 百慶	鹿児島大学 学術研究院 農水産獣医学域水産学系・助教
（英訳表記） Momochika Kumagai	（英訳表記） Research Field in Fisheries, Agriculture, Fisheries and Veterinary Medicine Area, Graduate School of Transdisciplinary Studies, Kagoshima University・Assistant Professor

4. 研究目的、成果、今後の見通し

【研究目的】 代表研究者は、癌細胞に選択的に作用する新規抗癌剤のリード化合物探索を目的として、紅藻 *Laurencia* 属から単離された、強力な細胞毒性をもつ含臭素ポリエーテル類に着目して研究を進めた。最初に単離された天然物がチルシフェロール (1) であったことより、一連の類縁体をチルシフェロール類と呼ぶ (Figure 1)。構造的な特徴として、共通骨格 (ABC 環、ピンク色) である、ツイスト-ボート型の C 環を含むジオキサビシクロ [4.4.0] デカン環 (BC 環) と、プロモ基を含むテトラヒドロピラン環 (A 環) が上げられる。これまでに D 環を含めた側鎖部位 (青色) が異なる 30 種ほどの類縁体が発見されており、一部の細胞毒については報告はなされているが、詳細な構造活性相関等の報告例は特に無く、分子レベルでの作用機構の詳細も未だ不明である。また、そもそも化学構造における相対配置および分子の絶対配置も完全に決定している天然物が少なく、絶対配置まで決定しているものは化合物 1 ~ 4 のみであった。その問題解決のため、チルシフェロール類の各部分構造を合成し、それらを連結する収束的合成法の確立に着手した。さらに、細胞毒性ポリエーテル類の作用機構解明を目指し、ケミカルバイオロジー研究を本格的に進めることを目標に、まずは天然物の構造活性相関研究を展開した。その知見より、細胞毒性を保持した分子プローブを設計し、それを用いて標的タンパク質を明らかとし、そのプローブ分子の作用機構に関する新たな知見を得ることを目指した。

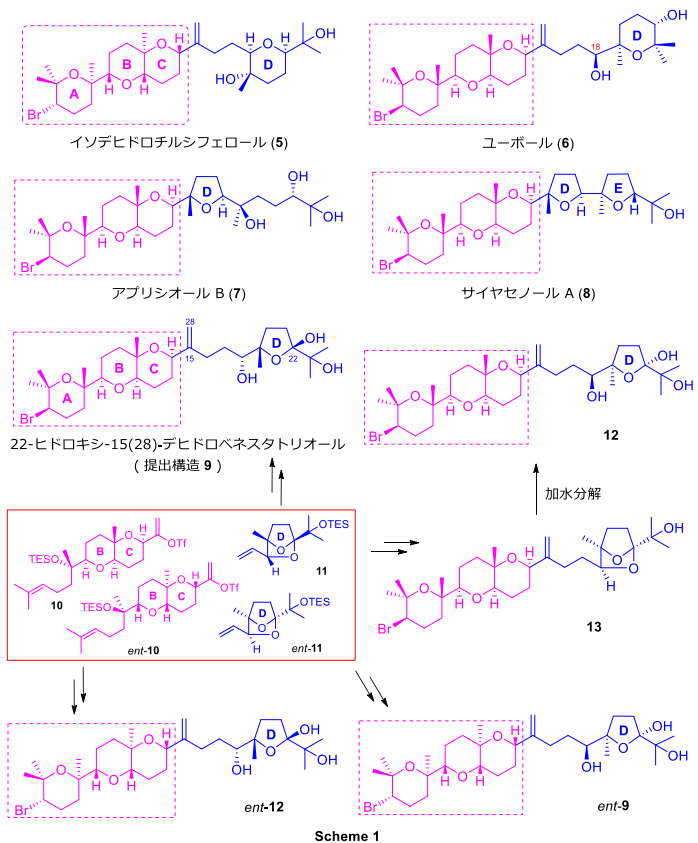


素ポリエーテル類に着目して研究を進めた。最初に単離された天然物がチルシフェロール (1) であったことより、一連の類縁体をチルシフェロール類と呼ぶ (Figure 1)。構造的な特徴として、共通骨格 (ABC 環、ピンク色) である、ツイスト-ボート型の C 環を含むジオキサビシクロ [4.4.0] デカン環 (BC 環) と、プロモ基を含むテトラヒドロピラン環 (A 環) が上げられる。これまでに D 環を含めた側鎖部位 (青色) が異なる 30 種ほどの類縁体が発見されており、一部の細胞毒については報告はなされているが、詳細な構造活性相関等の報告例は特に無く、分子レベルでの作用機構の詳細も未だ不明である。また、そもそも化学構造における相対配置および分子の絶対配置も完全に決定している天然物が少なく、絶対配置まで決定しているものは化合物 1 ~ 4 のみであった。その問題解決のため、チルシフェロール類の各部分構造を合成し、それらを連結する収束的合成法の確立に着手した。さらに、細胞毒性ポリエーテル類の作用機構解明を目指し、ケミカルバイオロジー研究を本格的に進めることを目標に、まずは天然物の構造活性相関研究を展開した。その知見より、細胞毒性を保持した分子プローブを設計し、それを用いて標的タンパク質を明らかとし、そのプローブ分子の作用機構に関する新たな知見を得ることを目指した。

【研究成果と今後の見通し】

1. 22-ヒドロキシ-15(28)-デヒドロベネスタトリオールの全合成と相対配置および分子の絶対配置の決定

前述の通り、代表研究者のグループは、チルシフェロール類の収束的合成法を確立した (Scheme 1)。その手法を用い、過去には、細胞毒性ポリエーテル類 5 ~ 8、計 4 種類の合成を達成し、それらの全化学構造を Scheme 1 に示すように明らかとした。今回新たな研究成果として、未だ化学構造が曖昧であった 22-ヒドロキシ-15(28)-デヒドロベネスタトリオール (単離者による提出構造は 9) の合成を達成し、その提出構造を修正したので報告する。すなわち、BC 環フラグメント 10 および D 環フラグメント 11 と、その鏡像体 ent-10 および ent-11 をそれぞれ連結し、提出構造式 9、そのジアステレオマー 12、そして鏡像異性体 ent-9 および ent-12 を“芋ずる式に”合成した。その過程で、天然物として報告されている NMR データは、代表研究者の合成中間体であるケタール 13 と完全に一致した。これは重溶媒である CDCl<sub>3</sub> に含有する微量の酸によって、天然物のヘミアセタール部位が環化したことに起因すると考察する。全ての合成品と天然物との比旋光度の比較により、化合物 12



その鏡像体 ent-10 および ent-11 をそれぞれ連結し、提出構造式 9、そのジアステレオマー 12、そして鏡像異性体 ent-9 および ent-12 を“芋ずる式に”合成した。その過程で、天然物として報告されている NMR データは、代表研究者の合成中間体であるケタール 13 と完全に一致した。これは重溶媒である CDCl<sub>3</sub> に含有する微量の酸によって、天然物のヘミアセタール部位が環化したことに起因すると考察する。全ての合成品と天然物との比旋光度の比較により、化合物 12

が 22-ヒドロキシ-15(28)-デヒドロベネスタトリオール の正しい化学構造であると決定した。

## 2. プローブ分子の設計を志向した構造活性相関研究

合成した天然物や合成中間体について、各種癌細胞（例えば、ヒト子宮頸癌細胞 *Hela*、ヒト結腸腺癌細胞 *HT-29*、そしてマウス白血病細胞 *P388* 等）に対し、それぞれ細胞毒性を評価した。過去の知見では、天然物 **4** および **6** について、他の類縁体と比較して特に強い阻害活性が観察でき、特に *P388* 細胞に対して選択的かつナノオーダーの強力な毒性を示した（ $IC_{50}$  値：各々 25.0 nM と 47.0 nM）。そして D 環側鎖をもたない ABC 環部分のみの類縁体 **14** についても、*P388* 細胞に対して特異的な毒性が見られた（**Figure 2**）。しかし ABC 環部位の絶対配置を逆とする鏡像異性体 *ent-14* については大幅に活性が低下し、含臭素ポリエーテル類が *P388* 細胞に対して強力な阻害活性を示すには、決まった絶対配置をもつ ABC 環構造が必須であることが分かった。一方 C 環側鎖部位については、阻害活性発現に重要な官能基を掴めずにいたので、ABC 環をベースとした構造活性相関研究を進めた。類縁体 **14** の水酸基を保護した **15** および **16** を合成し、阻害活性における極性の影響を調査した。合成したアセトニド保護体 **15** は、培養培地に溶解せず測定不能であった。またベンジル保護体 **16** の阻害活性はフリー体である **14** とほぼ同等であり、C 環側鎖部位に、ある程度高い置換基を導入しても阻害活性が保持できることが分かった。強力な毒性を示す天然物 **4** および **6** は C18 位（赤色）に水酸基をもち、その水酸基の存在が強力な阻害活性発現に特に重要ではないかと推定した。それを確認するため類縁体 **17** を合成し毒性を評価したところ、特異的な活性は見られるものの、**14** と比較して阻害活性が顕著に向上することは無かった。

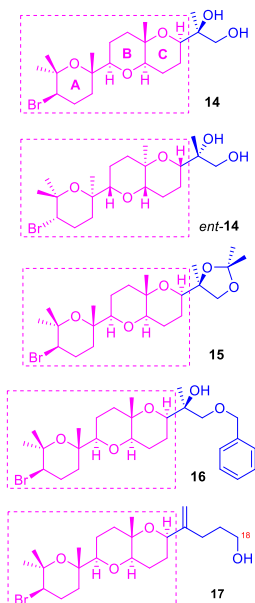
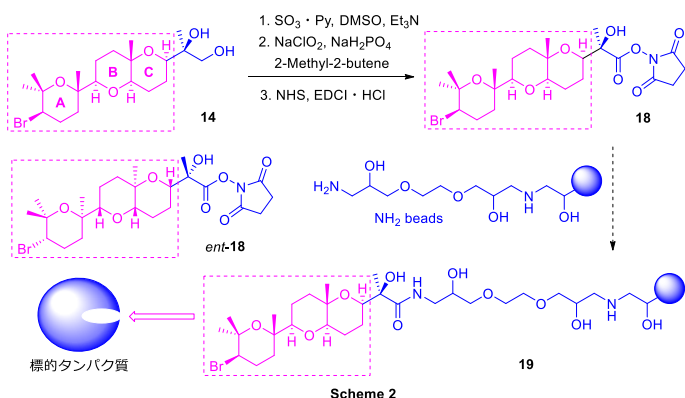


Figure 2

## 3. プローブ分子の設計と合成、そしてケミカルバイオロジー研究への展開

蓄積された構造活性相関研究の知見より、多摩川精機社製の *FG beads*<sup>®</sup> に接続するプローブ分子を設計・合成した。前項の類縁体 **16** の阻害活性が保持できたことから、アフィニティー精製に利用するプローブ分子と *FG beads*<sup>®</sup> の固定化部位に、ジオールの一級水酸基を選択した。*FG beads*<sup>®</sup> と固定化する官能基は複数考えられるが、一級水酸基から誘導が容易であるカルボン酸を選択し、連結のため *N*-ヒドロキシスクシンイミド（*NHS*）エステルへと変換した。分子プローブ **18** は、**14** から二度の酸化反応を経て *NHS* と縮合することで得た（**Scheme 2**）。同様に、リガンドの鏡像体 *ent-18* もネガティブコントロールとして合成した。現在、**18** とアミノ *beads* との接続を検査中であり、標的タンパク質の特定



Scheme 2

を経た、細胞毒性ポリエーテル類の作用機構解明につながると大いに期待する。また、*P388* 細胞の提供元が異なると、ABC 環の立体配置特異的な細胞毒性発現が顕著に弱まることを新たに見出しており、提供由来の異なる *P388* 細胞同士の網羅的なタンパク質解析・遺伝子発現解析の比較を行うアプローチでも標的タンパク質の推察ができる可能性が示唆された。