The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	抗腫瘍活性discorhabdin類および関連化合物の合成と創薬研究
Author(s)	和田, 康史
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/1913
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【5】

氏　　名	和（わ）　田（だ）　康（やす）　史（ふみ）
博士の専攻分野の名称	博　士（薬　学）
学　位　記　番　号	第　２３７４８　号
学位授与年月日	平成22年３月23日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 薬学研究科分子薬科学専攻
学　位　論　文　名	抗腫瘍活性discorhabdin類および関連化合物の合成と創薬研究
論文審査委員	（主査） 教　授　藤岡　弘道 （副査） 教　授　田中　徹明　　教　授　小林　資正　　教　授　小比賀　聡

論 文 内 容 の 要 旨

Discorhabdin アルカロイド類は、1980 年代後半に海綿より単離構造決定された新しいタイプの多環式海洋天然物であり、これらはいずれもピロロイミノキノン骨格と、スピロ環骨格を併せ持つ特異な構造を有している。1986 年、Munro らによりニュージーランド産の海綿 *Latruculia du Bocage* から色素成分として discorhabdin C が単離構造決定され、L1210 腫瘍細胞に対し ED_{50} < 100 ng/ml、P388 マウス白血病細胞に対し ED_{50} 30 ng/ml という強い細胞毒性を有することが報告された。また 1987 年に小林らにより沖縄産の海綿 *Prianos melanos* から prianosin A が、1988 年には Munro らにより海綿 *Latruculia* から discorhabdin A が単離構造決定され、これらは同一の化合物であることが明らかにされた。Discorhabdin A (prianosin A) は、*in vitro* で L1210, L5178Y マウス白血病細胞に対し IC_{50} 値が各々37, 14 ng/ml、xrs-6 に対し IC_{50} 13 ng/ml という強力な細胞毒性を有する。Prianosin B は discorhabdin A の 16, 17 位が脱水素化されたもので、16,17-dehydropyrroloiminoquinone 骨格を持ち、これらはわずかな構造の差にもかかわらず、*in vitro* で L1210, L5178Y マウス白血病細胞に対し IC_{50} 値が各々2.0, 1.8 μg/ml と、discorhabdin A と比較して非常に弱い細胞毒性を示すことが報告されているが、その詳細は不明である。

一方、当研究室ではこれまでに超原子価ヨウ素試薬を用いる基盤反応を利用することで、discorhabdin 類の中で *in vitro* で最も強い活性を示す discorhabdin A の世界初の不斉全合成に成功している。このような背景下、著者は discorhabdin 類の創薬への展開を目的とした研究に着手した。Discorhabdin A は *in vitro* で強力な活性を示すものの *in vivo* では活性を示さないことが報告されている。その原因として、discorhabdin A は生体内では非常に不安定で、即座に分解するからではないかと考えた。そこで、種々のアプローチによって discorhabdin A の構造を安定化させることを考えた。すなわち discorhabdin A の 1) ピロロイミノキノン構造を安定化させる手法を得る目的で、天然物 prianosin B および discorhabdin F の合成を行った。さらに 2) 硫黄架橋構造を安定化させることを計画し、種々のアナログの設計および合成をした。最後に 3) 構造活性相関および作用機序に関する研究を行った。

1) ピロロイミノキノン構造に関して、16, 17 位が脱水素化された 16,17-dehydropyrroloiminoquinone 骨格は、平面性を有し、芳香族性を持つことが知られている。よって脱水素化により、この部位の安定性が向上すると予測されるため、16,17-dehydropyrroloiminoquinone 骨格の合成法を確立することを考えた。また同様の骨格を有する天然物として、前述の prianosin B 以外にも discorhabdin F が知られている。Prianosin B は、discorhabdin A と比較し、*in vitro* では活性は減弱するものの、*in vivo* での報告例はない。また discorhabdin F に関しては、*in vitro*、*in vivo* ともに報告例はない。そこで prianosin B と discorhabdin F を合成ターゲットとした。まずモデル基質を用いて discorhabdin A の 16, 17 位に相当する部分の脱水素化反応を検討した。しかし、DDQ や MnO_2 等の通常の酸化条件では全く目的物を得ることができなかった。種々検討した結果、触媒量の NaN_3 を用いると脱 Ts 化を伴った脱水素化反応が進行することが明らかとなった。真正の系は、エノン構造や不安定なピロロイミノキノン構造、さらに歪んだ架橋スルフィド構造等を有し、非常に緩和な条件下での酸化反応を必要とするが、本反応条件下、*N*-Ts discorhabdin A の脱水素化が進行し、prianosin B の初の不斉全合成を達成した。また、*N,O*-アセタール体を脱 MeO 化した後、同様に NaN_3 を作用させ、discorhabdin F の合成も達成した。

2) 次に、硫黄架橋構造を安定化させたアナログの合成を行った。歪みのある *N,S*-アセタール構造は酸化に弱く、酸などで分解しやすいと考えられる。そこで、歪みをなくすため五員環架橋構造を六員環架橋構造に変え、さらに硫黄原子を酸化に安定な酸素原子に変換した oxa アナログを設計した。実際の合成は、既知のアミノアルコール体の水酸基のジエノンに対する分子内マイケル付加によって容易に達成できた。さらに先の NaN_3 を用いた脱水素化反応によって、16,17-dehydropyrroloiminoquinone 骨格を有するアナログの合成も行った。

一方、discorhabdin A の 4, 5 位が脱水素化された discorhabdin B は弱いながらも *in vivo* での活性発現が確認されている。これは架橋ジエノン構造に起因していると考えられるため、架橋ジエノン構造を有するアナログの合成は非常に興味深い。よってあらかじめチロシン誘導体に導入した Br 基を機軸にして、架橋ジエノン構造を有するアナログ (oxa-dienone アナログ) の合成にも成功した。詳細は省略するが、oxa アナログは discorhabdin A と同程度ないしそれ以上の活性を示すことを見出した。

3) さらに著者は、discorhabdin 類の構造活性相関および作用機序解明研究を行った。これまでに合成した種々の天然および非天然の discorhabdin 類を用いて、*in vitro* MTT アッセイを行った結果、以下に示すように活性発現に重要な構造を明らかにした。すなわち、a) スピロ構造およびピロロイミノキノン構造、b) C2 位および C4 位に 1 つ以上のハロゲン原子、c) N14 位の置換基は電子求引基、d) 硫黄または酸素架橋構造、e) ただし、C6 位および C8 位置換基の立体は活性に影響しないということが明らかとなった。さらにヒト培養がん細胞パネル (HCC) アッセイを依頼し、39 系の癌細胞株に対する感受性試験の結果から discorhabdin oxa アナログが有効濃度が十分低く、これまでの抗癌剤にはない新規作用機序を持った有効物質であると期待されるということを明らかにした。

論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

Discorhabdinアルカロイド類は、1980年代後半に海綿より単離・構造決定された新しいタイプの多環式海洋天然物であり、いずれもピロロイミノキノン骨格とスピロ環骨格を併せ持つ特異な構造を有している。これまでにdiscorhabdin類はA-Xと多くの種類のものが単離されており、硫黄架橋構造を有するもの、硫黄原子を含まないもの、メチルスルフィドを持つものや二量体のものなどに分類される。その構造の複雑さと活性の強さから、discorhabdin類は、新規抗腫瘍リード化合物として世界中で興味が持たれている。しかし合成の困難さから、こ

れまでに合成されたdiscorhabdin類は、discorhabdin A, C, Eの3種だけであった。そのため詳細な構造活性相関研究や、作用機序に関する研究はあまり行われていなかった。当研究室では、重金属酸化剤に代わる緩和で毒性の低い酸化剤である超原子価ヨウ素反応剤を用いる新規酸化反応の開発研究を以前から行っており、その反応を利用することで、discorhabdin類の中で*in vitro*で最も強い活性を示すdiscorhabdin Aの世界初の不斉全合成に成功している。しかし、このものは*in vivo*では活性を発現しないことが報告されている。

そのような背景下、和田君はdiscorhabdin類の創薬を目的とした研究に取り組んだ。すなわち、discorhabdin Aのピロロイミノキノン部を安定化する目的で、新規脱水素化法を確立し、脱水素化されたピロロイミノキノン構造を有する天然物prianosin Bおよびdiscorhabdin Fの初の不斉全合成を達成した。またdiscorhabdin Aの硫黄架橋部位を安定化させたoxa アナログを設計・合成し、oxaアナログがdiscorhabdin Aよりも安定かつ合成容易で、さらにほぼ同程度の活性を示すことを明らかにした。また、*in vivo*での活性発現が報告されているdiscorhabdin Bのoxaアナログであるoxa-dienoneアナログの合成にも成功した。またこれまでに合成した、種々のdiscorhabdin類の構造活性相関研究から、活性発現に重要な構造を明らかにした。さらに、作用機序に関する研究も行い、discorhabdin Aのoxa アナログは、discorhabdin Aと同様の作用機序を有し、さらにそれらはこれまでの抗癌剤にはない新規の作用機序を有することを明らかとした。

以上の成果は、博士（薬学）の学位論文に値するものと認める。