



Title	抗腫瘍性環状デプシペプチドarenastatin Aの構造活性相関とコンホメーション解析
Author(s)	田村, 理
Citation	大阪大学, 2003, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/44152
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed 大阪大学の博士論文について

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

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

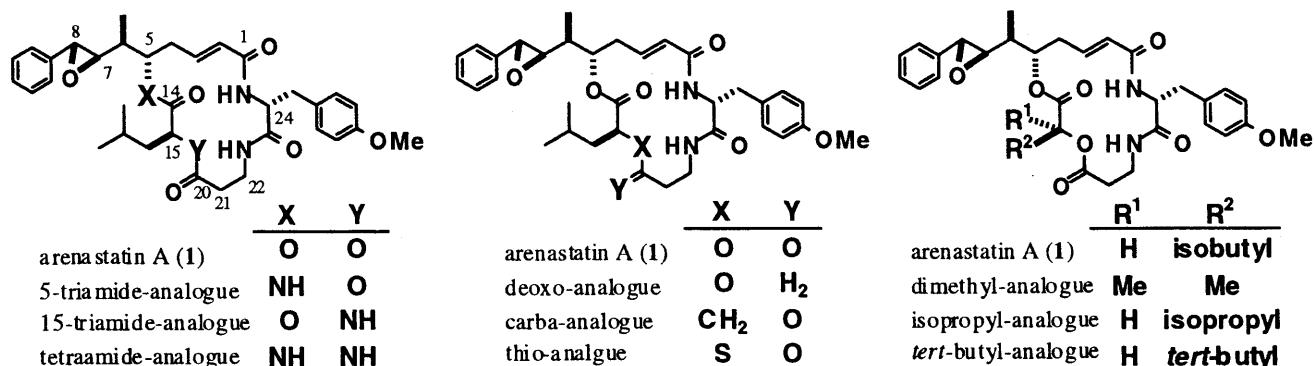
The University of Osaka

氏名	た 田 村 さとる
博士の専攻分野の名称	博 士 (薬 学)
学 位 記 番 号	第 17773 号
学位授与年月日	平成 15 年 3 月 25 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 1 項該当 薬学研究科応用医療薬科学専攻
学 位 論 文 名	抗腫瘍性環状デプシペプチド arenastatin A の構造活性相関とコンホメーション解析
論 文 審 査 委 員	(主査) 教授 小林 資正 (副査) 教授 北 泰行 教授 今西 武 教授 高木 達也

論 文 内 容 の 要 旨

海綿より単離・構造決定された arenastatin A (1) は、KB 培養腫瘍細胞に対して $IC_{50} : 5 \text{ pg/mL}$ の非常に強力な細胞毒性を示す 16 員環状デプシペプチドである。これまで、1 の全合成と立体異性体の合成を達成し、その構造活性相関から、いずれの立体配置も強力な細胞毒性活性の発現に重要であることが分かっている。

この arenastatin A (1) の抗腫瘍剤としての可能性を検討するため、マウスを用いた *in vivo* 抗腫瘍活性試験を行ったところ、P388 白血病に対しては腹腔内投与によって抗腫瘍性が認められたものの、静脈内投与では P388 白血病、Lewis 肺癌、Colon38 大腸癌のいずれに対しても抗腫瘍効果がなかった。この原因が、1 の分子内に存在するエステル結合の代謝分解であると考え、2 カ所あるエステル結合の一方、あるいは両方をアミド結合へと変換した三種の amide-analogues を合成し、血清中での安定性を比較することとした。これら amide-analogues の合成は、1 の合成で用いた 4 種の segments を組み合わせる方法を適用し、アミド結合に必要な segment は窒素原子を導入した対応する segment を用いた。合成した amide-analogues と 1 をマウス血清中でインキュベートしたところ、15,20-エステル結合を有する 1 と 5-triamide-analogue が速やかに分解するのに対し、15,20-アミド結合を有する 15-triamide-analogue と tetraamide-analogue はほとんど分解されないことが明らかとなり、15,20-エステル結合が血清中で代謝を受けることが判明した。また、これが、1 が静脈内投与において抗腫瘍性を発現しない原因であると強く示唆された。



次に、強力な細胞毒性活性を保持したまま、血清中での安定性を獲得し、且つ水溶性の向上した arenastatin A アナログの創製を目的に、血中で容易に分解されることが判明した 15,20-エステル結合を、代謝されにくくと予測される官能基に変換したアナログの合成に着手した。まず、20 位カルボニル基をメチレンに変換した deoxo-analogue と、エーテル酸素をメチレンへと置換した carba-analogue を合成した。これら両アナログは、ほぼ完全な血中安定性を獲得していたが、細胞毒性活性 (IC_{50}) は 40 ng/mL 、 70 ng/mL と 1 と比較して 1000 倍以上減弱していた。一方、15,20-エステル結合の代謝が酵素によるものと考えられることから、原子半径の大きい硫黄を含んだチオエステルに変換した thio-analogue についても合成したところ、 $IC_{50}=0.9 \text{ ng/mL}$ の強力な細胞毒性活性を有していたが、血中での安定性は 1 よりもむしろ低下していた。

ここで、arenastatin A (1) の 15,20-エステル結合について改変したアナログの細胞毒性活性が、いずれも大幅に減弱している原因として、変換した官能基自身の性質だけではなく、この部分の構造変化に起因する各分子の 16 員環部分のコンホーメーションの相違が挙げられると推定した。そこで、1 と 15-triamide-analogue、deoxo-analogue、carba-analogue についてコンホーメーションを解析し、比較検討した。解析の手法として分子動力学計算を用いることとし、そのなかでも比較的容易に広域的な安定コンホマーの探索を行える simulated annealing 法 (SA) を利用した。また、実験事実を加味するために、各化合物の NOESY スペクトルより得られる距離情報を拘束条件として用いた。得られたそれぞれのアナログのコンホーメーション群を比較するため、活性発現に重要と考えられる 5,14-および 15,20-エステル結合部分の二面角によってクラス分けし、ポテンシャルエネルギーから各クラスの存在確率を算出した。その結果、1 のみが三種のアナログと大きく異なったコンホーメーションを非常に高い確率で取っていることが判明し、このコンホーメーションが 1 の強力な細胞毒性活性の発現に重要であると示唆された。

コンホーメーション解析の結果から、15,20-エステル結合の変換が、16 員環部分の三次元構造に変化をもたらし、大幅な活性の減弱に繋がっていると推察されたことから、次に、立体障害を付加することによって代謝分解を抑制することを意図したアナログの設計を行った。まず、21,22 位に cyclohexyl 環を縮環させた cyclohexyl-analogue を合成したが、大幅な細胞毒性の減弱と、予期に反して血中安定性を得られない結果となった。そこで、21 位とはエステル結合を挟んで逆側の 15 位に、立体障害を付加したアナログの合成に着手した。すなわち、15 位に 2 個の methyl 基を有する dimethyl-analogue と、1 の 15 位置換基である isobutyl 基を、分岐位置がより 16 員環に近い isopropyl 基あるいは *tert*-butyl 基に変換した isopropyl-analogue、*tert*-butyl-analogue を合成した。これら三種のアナログの血中安定性は、完全には代謝を回避していなかったが、1 と比較して安定性の向上が見られた。一方、細胞毒性活性 (IC_{50}) に関しては *tert*-butyl-analogue : 10 ng/mL と比較的強力な活性が認められたが、1 との比較では 1,000 分の 1 以下に減弱していた。ここで、*tert*-butyl-analogue について *in vivo* での抗腫瘍性を検討した結果、Lewis マウス肺癌に対し、静脈内投与で有意な抗腫瘍効果が認められ、血清中での安定性が有効に作用していることが示唆された。また、これらのアナログについても、先に示した方法によってコンホーメーション解析を行った結果、いずれも最も高確率に存在するコンホーメーションは、活性発現に重要と示唆された構造とは異なっており、やはりコンホーメーションの変化が活性減弱の原因であると示唆された。

論文審査の結果の要旨

海綿より単離・構造決定された 16 員環デプシペプチド arenastatin A (1) は、KB 培養腫瘍細胞に対して非常に強力な細胞毒性を示す微量活性物質である。これまで、1 の全合成と立体異性体の合成を達成し、その構造活性相関から、いずれの立体配置も強力な細胞毒性活性の発現に重要であることが分かっている。

Arenastatin A (1) がマウスを用いた *in vivo* 抗腫瘍活性試験では期待された強力な抗腫瘍効果は示さなかった。著者はこの原因が、1 の分子内に存在するエステル結合の代謝分解であると考え、2 カ所あるエステル結合をアミド結合へと変換した三種の amide-analogues を合成し、血清中での安定性を比較することにより、15,20-エステル結合が血清中で代謝を受けることを明らかにした。

次に著者は、強力な細胞毒性活性を保持したまま、血清中での安定性を獲得し、且つ水溶性の向上した arenastatin

A アナログの創製を目的に、15,20-エステル結合を変換したアナログの合成を行った。20 位カルボニル基をメチレンに変換した *deoxo-analogue* と、エーテル酸素をメチレンへと置換した *carba-analogue* は、ほぼ完全な血中安定性を獲得したが、細胞毒性活性が 1 と比較して 1000 倍以上減弱していた。そこで、1 と 15-triamide-analogue、*deoxo-analogue*、*carba-analogue* について、NOESY スペクトルより得られる距離情報を拘束条件として加味した分子動力学計算を用いてコンホメーションを解析し、比較検討した。その結果、1 のみが三種のアナログと大きく異なるコンホメーションを取っていることが判明し、このコンホメーションが 1 の強力な細胞毒性活性の発現に重要であると示唆された。

著者は次に、エステル結合に立体障害を付加することによって代謝分解を抑制することを意図したアナログの設計を行った。まず、21,22 位に cyclohexyl 環を縮環させた *cyclohexyl-analogue* を合成したが、大幅な細胞毒性の減弱と、予期に反して血中安定性が得られない結果となった。そこで、15 位に 2 個の methyl 基を有する *dimethyl-analogue* と、1 の 15 位置換基を *isopropyl* 基あるいは *tert-butyl* 基に変換した *isopropyl-analogue*、*tert-butyl-analogue* を合成した。これら三種のアナログの血中安定性の向上が見られたが、1 との比較では 1,000 分の 1 以下に活性が減弱していた。そこで、これらのアナログについてもコンホメーション解析を行った結果、いずれも 1 のコンホメーションとは異なっていた。

以上の成果は、博士（薬学）の学位論文として十分価値のあるものと認められる。