

92. 天然物ロイシノスタチン A の生物有機化学的研究

阿部 光

微生物化学研究会 微生物化学研究所 有機合成研究部

Key words : がん-間質相互作用, 触媒的不斉反応, 天然物全合成

緒 言

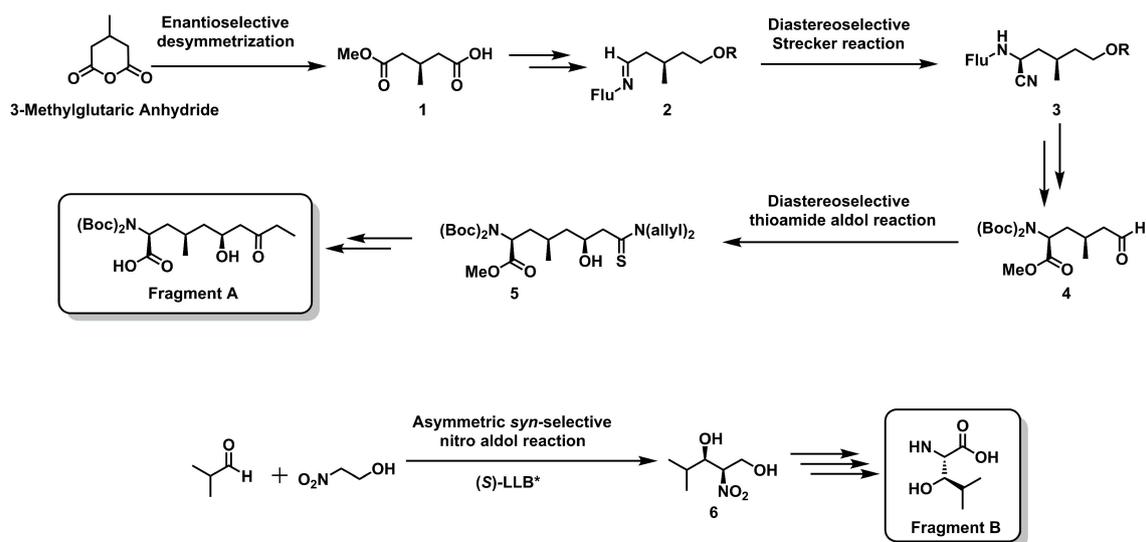
これまでのがん分子標的治療薬のターゲットはがん細胞自体に由来しており、その遺伝子の不安定性に起因する薬剤耐性が常に問題視されている。一方でがん細胞の増殖にはがん組織を形成する間質細胞（正常細胞）由来の分泌因子を介したシグナルも関与しており、遺伝子の安定性に鑑みこれを標的とした抗がん剤は従来の分子標的薬と比較し、耐性を生じ難い性質が期待される。共同研究者の川田はがん-間質相互作用に働きがん細胞の増殖を抑制する化合物を微生物二次代謝産物から探索し、幾つかの低分子活性物質を得ている。その中の一つである Leucinostatin A は間質細胞存在下において、非共存下と比較しより強力に前立腺がん細胞 DU-145 の増殖を抑制するが、その直接のターゲットは同定されておらず¹⁾、これを解明することで正常細胞を対象とした抗がん剤シーズ探索における新たな分子標的が提示される可能性がある。本研究を遂行するにあたり、まず関連化合物の調製にも適用可能な Leucinostatin A の効率的合成法を確立させることとし、合成ルート確立後は本手法を作用機序解明および生物活性増強を目的とした構造活性相関研究に応用させることとした。実際の合成では Leucinostatin A の異常アミノ酸ユニットにおける立体化学の制御に、所属研究室でこれまでに開発された触媒的不斉反応を利用することを考えた。

方 法

1. 合成戦略 (Scheme 1)

Fragment A において側鎖上 4 位のメチル基の立体制御には複核ニッケルシッフ塩基錯体を用いた 3-メチルグルタル酸無水物の不斉非対称化²⁾を利用する。次いでモノエステル **2** から誘導されるアルジミン **3** に対するジアステレオ選択的ストレッカー反応³⁾を試みる。また側鎖上末端の β -ヒドロキシケトン部位の構築には、アルデヒド **4** に対するジアステレオ選択的チオアミドアルドール反応⁴⁾の適用を計画した。一方で Fragment B の合成には LLB 触媒を用いたイソブチルアルデヒドと 2-ニトロエタノールの *syn*-選択的不斉ニトロアルドール反応⁵⁾を鍵工程とした戦略を立案した。

全フラグメント縮合段階においては Fmoc 固相合成法および液相法とを組み合わせることとした。

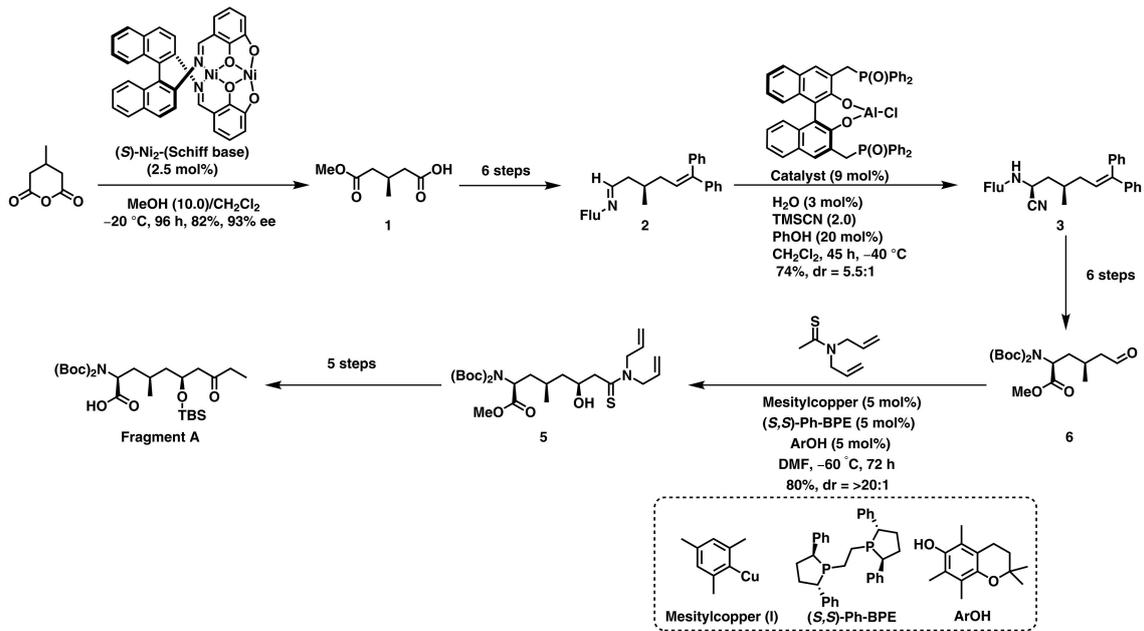


Scheme 1. Synthetic routes of fragment A and B

結果

1. Fragment A の合成 (Scheme 2)

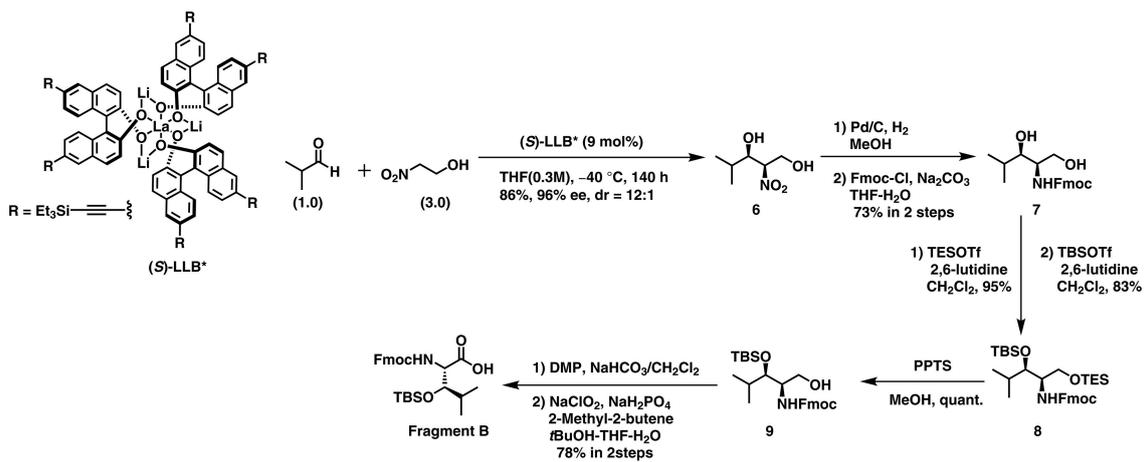
まず 3-メチルグルタル酸無水物の不斉非対称化を 2.5 mol% の (S)-Ni₂- (Schiff base) 触媒存在下で行い、82% 収率、93% ee で望むモノエステル **1** を得た。6 工程を経てアルジミン **2** へと誘導化した後、配位子にホスフィノイル部位を導入した Al-BINOL 型錯体を触媒に用いたジアステレオ選択的ストレッカー反応を試みた。初期検討時では得られた成績体のジアステレオ選択性は低かったものの、触媒量の水を添加すると改善が見られた。種々検討した結果、9 mol% の Al-BINOL 型錯体存在下において 3 mol% の水を添加した際に最も良い選択性 (5.5 : 1) で成績体 **3** を与えた。さらに 6 工程でアルデヒド **4** へと変換した後、1 価銅-Ph-BPE 錯体を触媒に用いたチオアミドアルドール反応を検討した。その結果、80% 収率、20 : 1 のジアステレオ選択性にて望むアルドール成績体 **5** を得た。生じた二級水酸基を TBS 基で保護した後、チオアミド部位のエチルケトンへの変換を行い、さらに加水分解を経て Fragment A を合成した。



Scheme 2. Synthesis of fragment A

2. Fragment B の合成 (Scheme 3)

まずイソブチルアルデヒドと2-ニトロエタノールとの *syn*-選択的不斉ニトロアルドール反応を9 mol%のLLB存在下で行うと、86%の単離収率、96% ee、12:1のジアステレオ選択性にて望むアミノアルコール **6**を得た。次いで **6**のニトロ基の接触還元とこれに続く Fmoc 基による保護を行い、さらに一級水酸基および二級水酸基それぞれを TES 基、TBS 基で順次保護した。PPTS による TES 基の選択的脱保護後、生じた一級水酸基に対して Dess-Martin 酸化さらに Pinnick 酸化を行うことで Fragment B を合成した。

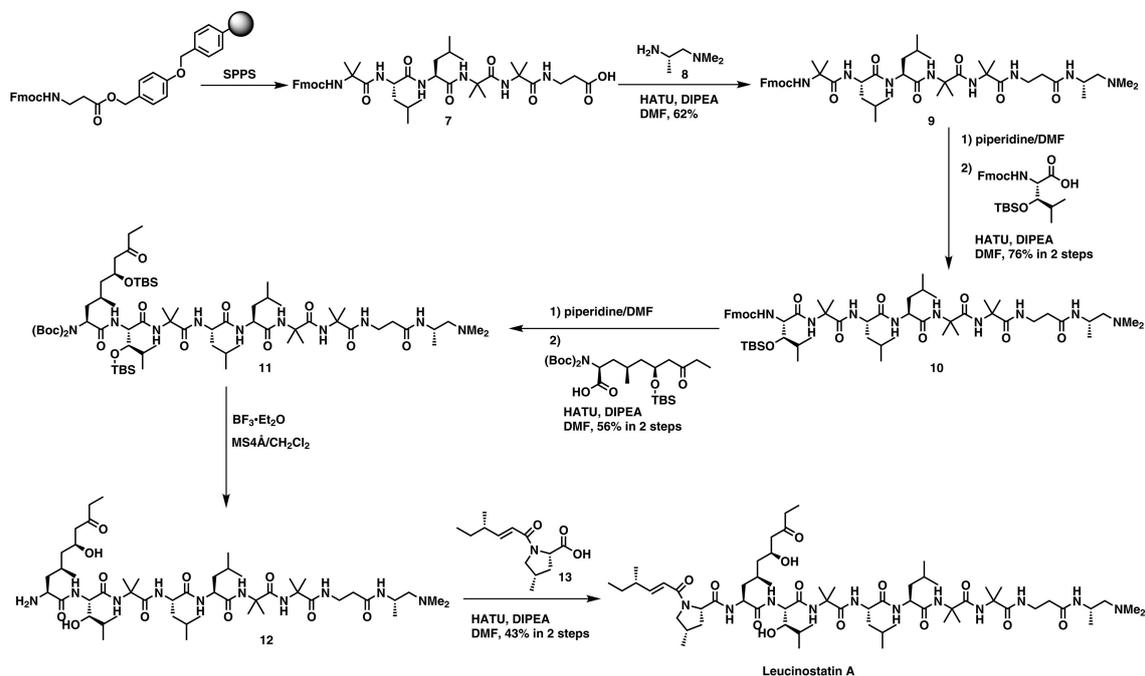


Scheme 3. Synthesis of fragment B

3. Leucinostatin A の全合成 (Scheme 4)

市販品より容易に入手可能なアミノ酸部位の縮合に関しては Fmoc 固相合成法を利用した。まず β -アラニン部位を wang 樹脂に担持させて固相合成を行い得られたカルボン酸 **7**は、アミン **8**と縮合させた。次いで Fmoc 基の脱保護

を行った後、Fragment B と縮合させた。さらに Fmoc 基を除去した後、Fragment A と縮合した。二つの TBS 基および Boc 基は $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ で処理することで、二級水酸基の β -脱離を伴うことなく脱保護が可能であった。得られたアミン **12** とプロリン誘導体 **13** とを縮合することで、目的とする天然物 Leucinoctatin A を合成した。



Scheme 4. Synthesis of leucinoctatin A

合成した Leucinoctatin A の各種 NMR スペクトルは天然物と酷似していたものの、間質細胞存在下における前立腺がん細胞 DU-145 に対する抗腫瘍活性は天然物よりも低く、加えて合成した Leucinoctatin A の HPLC 分析における保持時間は 7.582 分と天然物の 7.562 分とは異なることが分かった。

今回合成した非天然型アミノ酸の一つ Fragment B を有する過去の天然物の全合成論文^{6,7)}において、側鎖上 6 位の二級水酸基の絶対立体配置が訂正されていることから、Leucinoctatin A においてもその 6-エピ体を本ルートを用いて合成し比較検討した (Fig. 2)。その結果 NMR スペクトルに関しては完全なピーク的一致を示し、さらに HPLC 解析による生成物のピークが同保持時間 (7.557 分) にて観測された。更に、6-エピ体と天然物は同等の増殖阻害活性を示すことが分かった。以上の結果、Leucinoctatin A の 6 位二級水酸基の絶対立体配置は、*R* 配置であることが強く示唆された。

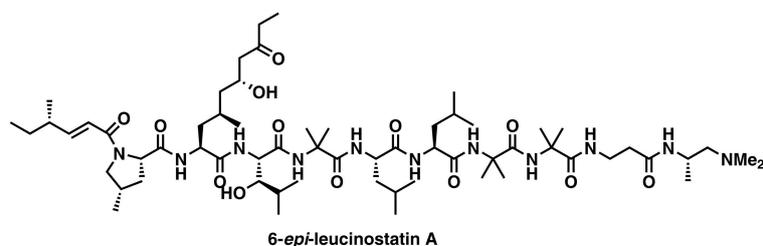


Fig. 2. Structure of 6-*epi*-leucinoctatin A

Table 1. Antitumor activity of leucinostatin's

compound	IC ₅₀ (μg/ml)
synthetic leucinostatin A	0.058
synthetic 6- <i>epi</i> -leucinostatin A	0.029
natural leucinostatin A	0.029

Antitumor activity for DU-145 cells (prostate cancer cells) with PrSC (prostate stromal cells).

考 察

今回所属研究室で開発された4つの触媒的不斉反応を鍵工程とした、二つの非天然型アミノ酸成分の合成を経た Leucinostatin A の初の触媒的不斉合成を達成した。

今後は本合成ルートを活用し、作用機序解明を目的とした構造活性相関研究を行っていきたい。

共同研究者

本研究の共同研究者は公益財団法人微生物化学研究会微生物化学研究所所長の柴崎正勝、同研究所有機合成研究部部長の渡辺匠および第1生物活性研究部部長の川田学、有機合成研究部の坂下千春、大内仁志（現静岡県立大学薬学部薬学科医薬品製造化学分野助教）である。

文 献

- 1) Kawada M, Inoue H, Ohba S, Masuda T, Momose I, Ikeda D. : Leucinostatin A inhibits prostate cancer growth through reduction of insulin-like growth factor-I expression in prostate stromal cells. *Int J Cancer*. 2010;15;126(4):810-8. doi: 10.1002/ijc.24915.
- 2) Gopinath, P, Watanabe, T, Shibasaki, M. : Catalytic enantioselective desymmetrization of meso-glutaric anhydrides using a stable Ni²⁺-Schiff base catalyst. *Org Lett*. 2012;2;14(5):1358-61. doi: 10.1021/ol3002078.
- 3) Takamura M, Hamashima Y, Usuda H, Kanai M, Shibasaki M. : A Catalytic Asymmetric Strecker-Type Reaction: Interesting Reactivity Difference between TMSCN and HCN. *Angew Chem Int Ed Engl*. 2000;39(9):1650-1652.
- 4) Iwata M, Yazaki R, Chen IH, Sureshkumar D, Kumagai N, Shibasaki M. : Direct catalytic enantio- and diastereoselective aldol reaction of thioamides. *J Am Chem Soc*. 2011;13;133(14):5554-60. doi: 10.1021/ja200250p.
- 5) Sasai H, Tokunaga T, Watanabe S, Suzuki T, Itoh N, Shibasaki M. : Efficient Diastereoselective and Enantioselective Nitroaldol Reactions from Prochiral Starting Materials: Utilization of La-Li-6,6'-Disubstituted BINOL Complexes as Asymmetric Catalysts. *J. Org. Chem.*, 1995;60;(23):7388-7389. doi: 10.1021/jo00128a005
- 6) Hung KY, Harris PW, Brimble MA. : Synthesis of the peptaibol framework of the anticancer agent culicin D: stereochemical assignment of the AHMOD moiety. *Org Lett*. 2012;16;14(22):5784-7. doi: 10.1021/ol302852q.
- 7) Kavianinia I, Kunaligam L, Harris PW, Cook GM, Brimble MA. : Total Synthesis and Stereochemical Revision of the Anti-Tuberculosis Peptaibol Trichoderin A. *Org Lett*. 2016;5;18(15):3878-81. doi: 10.1021/acs.orglett.6b01886.