

| | |
|---------|--|
| 氏名（本籍） | 服部 幸三（岐阜県） |
| 学位の種類 | 博士（薬学） |
| 学位記番号 | 甲 第162号 |
| 学位授与年月日 | 平成28年3月17日 |
| 学位授与の条件 | 学位規則第4条第1項該当者 |
| 学位論文の題名 | 抗腫瘍性天然物トリオスチンAの実用的合成法の開発及び新規誘導体合成と生理活性評価 |
| 論文審査委員 | 主査 伊藤 彰近 副査 大山 雅義 副査 宇野 文二 |

論文内容の要旨

ストレプトミセス属放線菌由来のトリオスチンA (TA) は、*D*-セリン (*D*-Ser), *N*-メチルバリン (MeVal), *N*-メチルシステイン (MeCys), アラニン (Ala) の4種類のアミノ酸8残基から成る抗腫瘍性環状デプシペプチドで、低酸素状態で活性化される転写因子、HIF-1(hypoxia-inducible factor-1)の強力な阻害剤であるエキノマイシン (Ec)の生合成前駆体である。近年、がんの微小環境が腫瘍の特異標的として注目され、低酸素環境の応答シグナル伝達のマスター転写因子であるHIF-1阻害剤の開発が進められている。既報のTAの全合成は、総収率は1%程度と低く、創薬研究に展開するには、不十分であった。そこで、TAの液相法による実用的合成法の開発及び誘導体合成と生理活性評価を目的とした。また、ビスクロ環架橋部に着目し、TAのジスルフィド架橋部の酸化型誘導体およびチオエーテル架橋型誘導体を新規設計し、その合成を試みた。

1. TA およびその誘導体の全合成 *D*-Ser, MeVal, MeCys, Ala から成るテトラデプシペプチドの合成において、保護基の組み合わせと縮合順序がその単離収率に大きく影響することが以下の検討より分かった。1)保護基の検討：MeCys のチオール保護基としてベンズアミドメチル (Bam) 基, *D*-Ser のカルボン酸の保護基としてアリル基の場合、収率及び再現性が向上した。2)縮合順序の検討：*D*-Ser, MeVal, MeCys, Ala の順で縮合すると目的とするテトラデプシペプチドを単一の異性体で得た(5工程収率60%)。一方、MeVal, MeCys, Ala, *D*-Ser の順で縮合するとMeValのラセミ化が進行し、*D*-MeValを含むテトラデプシペプチドが得られた。以上によって得られたテトラデプシペプチドをアミン体およびカルボン酸体へ変換し、それらを縮合させることにより直鎖オクタデプシペプチドを得た。そして、ヨウ素処理により脱Bam保護化に伴う分子内ジスルフィド化および脱Boc化を同時に行ない、引き続いて閉環を行なって、マクロライド体を得た。最後にCbz基を2-キノキサリンカルボニル基に変換し、TAの全合成を13工程総収率17.5%と、既知法に比べて約10倍の総収率で達成した。さらに本合成法を適用し、キノキサリン部位のナフトレン及びキノリン環等への変換体、*D*-MeValを含む立体異性体お

よび架橋ジスルフィドの酸化誘導体など種々の誘導体合成も達成した。

2. 生理活性評価 HIF-1 応答ルシフェラーゼアッセイにより、TA は HIF-1 α 転写活性化作用を強く阻害する ($IC_{50} = 27 \text{ nM}$) ことが明らかになった。また、ヒト乳癌由来細胞 MCF-7 を用いた MTT アッセイにおいて、強い細胞毒性を示した ($IC_{50} = 4.1 \mu\text{M}$)。また、スルホキシド型誘導体 (SO) は、有意な低酸素 (1% O_2) 選択的細胞毒性を示した。さらに、HIF-1 α のウェスタンブロットにより、MCF-7 細胞において Ec, TA 及び SO が、濃度依存的に HIF-1 α タンパク質の低酸素誘導発現を抑制することを見出した。

3. チオエーテル型誘導体の合成研究 エキノマイシン類似体としてチオエーテル架橋体を設計した。合成戦略として、チオエーテル架橋部をあらかじめ構築し、分子内脱水縮合反応によりマクロライド化する手法と、直鎖デプシペプチドを合成後、分子内求核置換反応によりチオエーテル架橋部を構築し、マクロライド化する手法を検討した。それぞれの合成法において、鍵中間体である直鎖ペプチドの合成を達成し、環化反応条件を種々検討したもののマクロライド体の完成には到らなかった。

論文審査の結果の要旨

トリオスチン A (TA) は、抗腫瘍環状デプシペプチドで、低酸素状態における応答シグナル伝達のマスター転写因子 HIF-1 に対する阻害剤エキノマイシン (Ec) の生合成前駆体である。申請者は、HIF-1 阻害剤として注目される TA 及びその誘導体の液相ペプチド合成法を基軸とした全合成検討及びそれらの生理活性評価を行った。従来の TA 全合成の総収率は 1%程度と非常に低く、創薬研究に展開するためには不十分であったが、申請者はペプチド合成における保護基及びアミノ酸縮合順序の見直しを行う事で、13 工程で 17.5%と大幅な総収率向上を達成した。また本手法に則り、各種 TA 誘導体の合成にも成功し、さらに Ec 類縁体であるチオエーテル架橋部を有する新規誘導体合成へのアプローチも展開している。一方、合成した各種 TA 誘導体については、それらの生理活性評価を行い、Ec、TA 及びそのスルホキシド型誘導体が HIF-1 α タンパク質の低酸素誘導発現を抑制することを見出した。さらに、スルホキシド型誘導体が低酸素選択的な細胞毒性を示すことを見出すことで、環状デプシペプチド母核が腫瘍細胞の低酸素微小環境を標的とする新規骨格になり得ることを明らかにした。以上、本研究で得られた知見は創薬研究に重要な示唆を与えることが期待され、博士 (薬学) 論文として価値あるものと認める。