慶應義塾大学学術情報リポジトリ
Keio Associated Repository of Academic resouces

Title	立体構造と生物活性の解明を目指した海洋産環状ペプチドの化学合成
Sub Title	Chemical synethesis of marine cyclic peptides for elucidation of their stereostrutures and biological activities
Author	末永, 聖武(Suenaga, Kiyotake)
Publisher	
Publication year	2011
Jtitle	科学研究費補助金研究成果報告書 (2010.)
JaLC DOI	
Abstract	palau'amideの立体構造を明らかにするため、可能性のある4種のジアステレオマーを全て合成し、palau'amideの全立体構造を明らかにした。またaurilideの構造活性相関を明らかにし、標的分子がミトコンドリアタンパク質のプロヒビチンであることを明らかにした。また、Miuraenamideの合成研究を行うとともに、Miuraenamideがアクチンの重合を促進し、アクチン線維を安定化することを明らかにした。その他、関連するペプチド化合物の単離構造決定と合成研究を行った。
Notes	研究種目：基盤研究(C) 研究期間：2008～2010 課題番号：20510204 研究分野：天然物化学 科研費の分科・細目：生物分子科学
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=KAKEN_20510204seika

慶應義塾大学学術情報リポジトリ(KOARA)に掲載されているコンテンツの著作権は、それぞれの著作者、学会または出版社/発行者に帰属し、その権利は著作権法によって保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

様式 C-19

科学研究費補助金研究成果報告書

平成２３年３月３１日現在

機関番号：３２６１２
研究種目：基盤研究（C）
研究期間：2008～2010
課題番号：２０５１０２０４
研究課題名（和文）　立体構造と生物活性の解明を目指した海洋産環状ペプチドの化学合成
研究課題名（英文）　Chemical synethesis of marine cyclic peptides for elucidation of their stereostrutures and biological activities.

研究代表者
末永 聖武（SUENAGA　KIYOTAKE）
慶應義塾大学・理工学部・准教授
研究者番号：60273215

研究成果の概要（和文）：
palau'amide の立体構造を明らかにするため、可能性のある 4 種のジアステレオマーを全て合成し、palau'amide の全立体構造を明らかにした。また aurilide の構造活性相関を明らかにし、標的分子がミトコンドリアタンパク質のプロヒビチンであることを明らかにした。また、Miuraenamide の合成研究を行うとともに、Miuraenamide がアクチンの重合を促進し、アクチン線維を安定化することを明らかにした。その他、関連するペプチド化合物の単離構造決定と合成研究を行った。

研究成果の概要（英文）：
To determine the absolute stereochemistry of palau'amide we synthesized four possible diasteremers of palau'amide with regard to C37 and C38. Among the NMR spectra of the four synthetic diastereomers, that of 1 was identical to that of natural palau'amide. This established the complete stereostructure. SAR study of aurilide was carried out, and target biomolecule of aurilide was determined to be prohibitin in the mitochondria. Synthetic studies on miuraenamide have been carried out. Miuraenamide induces actin polymerization and stabilizes actin filament. In addition, isolation, structure determination, and synthetic studies of related compounds have been carried out.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合　計
2008 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2009 年度	900,000	270,000	1,170,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
総　計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：天然物化学
科研費の分科・細目：生物分子科学
キーワード：環状ペプチド、立体構造、Palau'amide、aurilide、miuraenamide、プロヒビチン、アクチン、生物活性、合成研究

１．研究開始当初の背景

Palau'amide（**1**）は 2003 年にパラオ産シアノバクテリア *Lyngbya* sp. より単離された環状デプシペプチドある。KB 腫瘍細胞に対して強力な細胞増殖阻害活性を示すことから、抗がん剤あるいはそのリード化合物として期待されている。2005 年に上海有機化学研究所の Ma らによって提唱構造が合成されたものの、合成品のスペクトルデータは天然品のものと一致しなかったため、その絶対立体構造は不明のままであった。

また、palau'amide と構造的に類似の aurilide（**2**）は研究代表者らによって海洋動物タツナミガイから単離された化合物である。HeLa S_3 腫瘍細胞をはじめ各種腫瘍細胞に対して強力な細胞増殖阻害活性を示し、抗がん剤のリード化合物として期待されている。種々の薬理評価実験から、新しい作用機序をもつと予想されているが、その作用機構は不明のままであった。

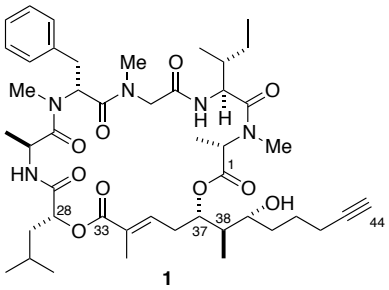
Miuraenamide（**3**）は難培養性の粘液細菌から単離された環状デプシペプチドである。植物疫病菌にたいして顕著な抗菌作用を示すとともに各種腫瘍細胞に対して強い増殖阻害活性を示すことから、抗がん剤のリード化合物として期待されている。しかし、粘液細菌の増殖速度が遅いために、培養による供給は困難であった。

２．研究の目的

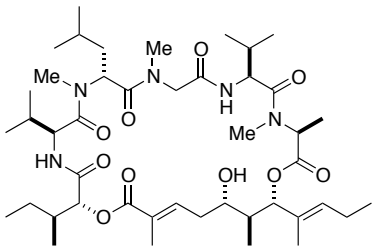
Palau'amide は非常に強い生物活性を有し、抗がん剤のリード化合物として期待されている。天然からは微量しか得られないために、化学合成により安定に供給し、動物実験やさまざまな薬理活性評価を行う必要がある。そのためには、palu'amide の立体構造を確実に決定する必要がある。これが本研究の第一の目的である。Pala'amide はペプチド部と脂肪酸部からなる化合物であり、ペプチド部と脂肪酸部の 1 ヶ所（水酸基）の立体化学は確実な方法で決定されている。一方、脂肪酸部の残り 2 ヶ所（C37 位および C38 位）の立体化学は、NMR データの解析から推定された。この 2 ヶ所の不斉炭素は比較的フレキシブルな部分に位置しており、不確かさがあると考えた。そこで、この部分に関する可能な 4 種のジアステレオマーを全て合成し、天然品とスペクトルデータを比較すると方法で確実に立体化学を決定することとした。

Aurilide は新しい作用機序により腫瘍細胞の増殖を抑制していると予想されている。標的となる生体分子の特定できれば、抗がん剤開発に重要な知見が得られる。そこで、Aurilide の誘導体を種々合成し、構造活性相関を明らかにした後、生物活性に影響しない位置にビオチンや蛍光基などの機能性官能基を導入し、標的分子探索を行うこととした。

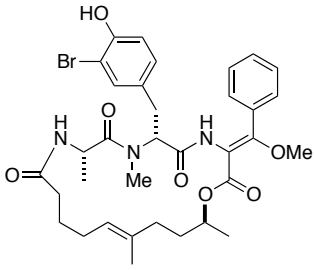
Miuraenamide は優れた生物活性を示すことから農薬あるいは抗がん剤のリード化合物として期待されている。しかし、サンプル量の不足から動物実験を含むさらなる生物活性試験の実施が困難な状況である。そこで、Miuraenamide の化学合成経路を確立し、合成による量的供給、合成品を用いた生物活性試験を行う。また、作用機序が不明であるので、確立した合成経路に基づきプローブ分子



1



2



3

を設計・合成し、生体標的分子の特定を目指す。

３．研究の方法

Palau'amide の脂肪酸ユニット（4 種類のジアステレオマー）を Roush クロチルホウ素化反応、Evans アルドール反応、シリルケテンアセタールを用いる向山アルドール反応を鍵反応としてそれぞれ合成した。なお、それぞの立体化学については、環状化合物に誘導するなどして確実な方法により決定した。また、ペプチド部は適切に保護したアミノ酸誘導体をＣ末端から順次縮合することにより合成した。脂肪酸ユニットとペプチド部を縮合した後、さらに *N*-メチルアラニン誘導体との縮合を行い、最後にマクロラクタム化を行うことによって、palau'amide の 4 種のジアステレオマーをそれぞれ合成した。合成品のデータを天然品のものと比較した。

Aurilide については、ペプチド部のアミノ酸をリシンに置き換えた誘導体を合成した。リシンの側鎖にはアミノ基があるので、種々の機能性分子を連結することが出来る。合成した誘導体の腫瘍細胞増殖効果を評価した。また、Aurilide の水酸基をアシル化した誘導体も合成した。水酸基をアシル化すると活性が約 1/100 に低下するものの、標的分子に探索には十分な活性を保持していることが分かった。そこで、オーリライドに蛍光基を導入した誘導体を合成し、細胞内局在を調べた。また、釣竿法によりオーリライドの生体内標的分子を探索した。

Muraenamide の脂肪酸ユニットを鈴木−宮浦カップリングを鍵反応として合成した。また、ペプチド部を C 末端より適切に保護したアミノ酸誘導体を順次縮合することにより合成した。脂肪酸ユニットとペプチド部の縮合を行った後、マクロラクタム化を行った。また、Miuraenamide を投与した細胞の顕微鏡観察から、細胞骨格系に作用していることが推察された。そこで、蛍光標識したアクチンを用いて、Miuraenamide がアクチンの重合・脱重合に及ぼす影響を調べた。

４．研究成果

合成した 4 種類のジアステレオマーの NMR データを天然品のものと比較した結果、1 種のデータが天然品データと完全に一致した。したがって、Palau'amide の全立体構造を決定するとともに化学合成を達成した。決定した Palau'amide の構造は、2003 年の提唱構造と同一であり、2005 年の Ma らの報告には何らかの誤り（合成品の立体構造決定のミス、エピ化など）があったと考えられる。

Aurilide の一部のアミノ酸をリシンに変えた誘導体は天然品の生物活性を保持していた。したがって、プローブ分子として役立つことが分かった。一方、水酸基にエステル結合を介して蛍光基を導入した誘導体を用いて、細胞内局在を調べた結果、aurilide はミトコンドリアに局在することが分かった。また、釣竿法により標的分子の探索を行った結果、Aurilide の標的分子はミトコンドリアタンパク質のプロヒビチンであることが判明した。

Miuraenamide の合成研究の結果、現在までにマクロラクタム化に成功し、環状化合物を得ている。しかし、途中段階の収率が悪く、合成効率が悪いため、保護基や反応条件の検討、別ルートの検討を進める必要がある。ピレン化アクチンを用いて、Miuraenamide のアクチンへの作用を調べたところ、Miuraenamide はアクチンの重合を促進し、アクチンフィラメントを安定化することが分かった。

５．主な発表論文等
（研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線）

〔雑誌論文〕（計 7 件）

1. Eriko Sumiya, Hiroki Shimogawa, Hiroaki Sasaki, Masato Tsutsumi, Ken'ichi Yoshita, Makoto Ojika, Kiyotake Suenaga, and Motonari Uesugi: Cell-morphology profiling of a natural product library identifies bisebromoamide and miuraenamide A as actin-filament stabilizers.

ACS Chemical Biology, **6** (5), 425–431 (2011).（査読あり）

2. Shin-ichi Sato, Asako Murata, Tsubasa Orihara, Takashi Shirakawa, Kiyotake Suenaga, Hideo Kigoshi, and Motonari Uesugi: Marine Natural Product Aurilide Activates the OPA1-Mediated Apoptosis by Binding to Prohibitin. *Chemistry and Biology*, **18** (1), 131-39 (2011).（査読あり）

3. Hiroaki Sasaki, Toshiaki Teruya, Hidesuke Fukazawa, and Kiyotake Suenaga: Revised Structure and Structure-Activity Relationship of Bisebromoamide and Structure of Norbisebromoamide from the Marine Cyanobacterium *Lyngbya* sp. *Tetrahedron,* **67** (5), 990–994 (2011).（査読あり）

4. Hirokazu Sugiyama, Atsushi Watanabe, Toshiaki Teruya, and Kiyotake Suenaga: Synthesis of palau'amide and its diastereomers: Confirmation of its stereostructure. *Tetrahedron Letters,* **50** (52), 7343-7345 (2009).（査読あり）

5. Toshiaki Teruya, Hiroaki Sasaki, Hidesuke Fukazawa, and Kiyotake Suenaga: Bisebromoamide, a Potent Cytotoxic Peptide from the Marine Cyanobacterium *Lyngbya* sp.: Isolation, Stereostructure, and Biological Activity. *Organic Letters*, **11** (21), 5062-5065 (2009).（査読あり）

6. Toshiaki Teruya, Hiroaki Sasaki, and Kiyotake Suenaga: Hexamollamide, a Hexapeptide from an Okinawan Ascidian Didemnum molle. *Tetrahedron Letters,* **49** (36), 5297-5299 (2008).（査読あり）

7. Kiyotake Suenaga, Shuri Kajiwara, Satomi Kuribayashi, Tomohisa Handa, and Hideo Kigoshi: Synthesis and Cytotoxicity of Aurilide Analogs. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters,* **18** (14), 3902-3905 (2008).（査読あり）

〔学会発表〕（計 21 件）

1. 渡邊　敦・轟　星児・照屋　俊明・大野　修・末永　聖武：新規鎖状ペプチド Bisebromoamide 類の合成研究、日本化学会第 91 春季年会（神奈川大学）、3A4-31、2011 年３月 28 日

2. 徳住　啓太・鳥居原　英輔・伊藤　嘉昌子・照屋　俊明・末永　聖武：抗菌性デプシペプチド ミウラエナミド A の合成研究、日本化学会第 91 春季年会（神奈川大学）、3A4-29、2011 年３月 28 日

3. Hiroaki Sasaki, Toshiaki Teruya, and Kiyotake Suenaga: Bisebromoamide, a potent cytotoxic peptide from the marine cyanobacterium *Lyngbya* sp. Pachifichem 2010（Hawaii）, 2010 年 12 月 19 日

4. 住谷瑛理子、下川浩輝、佐々木宏明、小鹿　一、末永聖武、上杉志成：細胞形態変化誘導活性を指標としたアクチン阻害化合物の探索、第５２回天然有機化合物討論会（静岡）、講演要旨集 p. 547-552、2010 年９月 29 日

5. 渡邊　敦、杉山弘和、照屋俊明、大野　修、末永聖武：海洋産細胞毒性環状デプシペプチド Palau'amide の合成と立体構造、第５２回天然有機化合物討論会（静岡）、講演要旨集 p. 319-324、2010 年９月 29 日

6. 佐々木宏明・照屋俊明・末永聖武：海洋シアノバクテリア *Lyngbya* sp. 由来 の新規鎖状ペプチド Bisebromoamide の単離と 構造、生物活性、構造活性相関、日本化学会第 4 回関東支部大会（筑波大学）、2C4-22、2010 年８月３１日

7. 徳住啓太・鳥居原英輔・ 照屋俊明・末永聖武：抗菌性デプシペプチドミウラエナミド A の合成研究、日本化学会第 4 回関東支部大会（筑波大学）、2C4-18、2010 年８月３１日

8. 渡邊 敦・轟 星児・照 屋俊明・大野 修・末永聖武：新規鎖状ペプチド Bisebromoamide の 合成研究、日本化学会第 4 回関東支部大会（筑波大学）、2C4-17、2010 年８月３１日

9. 佐々木 宏明、照屋 俊明、末永 聖武：海洋シアノバクテリア *Lyngbya* sp. 由来の新規鎖状ペプチド Bisebromoamide の単離と構造、生物活性、構造活性相関、新規素材探索研究会第９回セミナー（新横浜）、2010 年 6 月 11 日

10. 渡邊敦、杉山弘和、照屋俊明、末永聖武：海洋産細胞毒性環状デプシペプチド Palau' amide の合成と立体構造、第５９回有機合成化学協会関東支部シンポジウム（東京農工大学）、C13、2010 年５月２２日

11. 住谷瑛理子、下川浩輝、佐々木宏明、末永聖武、上杉志成、海洋天然物 Bisebromoamide によるアクチン線維の安定化、ケミカルバイオロジー学会第５回年会（慶應義塾大学）、O-25、2010 年５月 19 日

12. 佐々木宏明、照屋俊明、末永聖武：海洋シアノバクテリア *Lyngbya* sp. 由来の新規鎖状ペプチド Bisebromoamide の単離と構造、生物活性、構造活性相関、ケミカルバイオロジー学会第５回年会（慶應義塾大学）、P-11、2010 年５月 18 日

13. 徳住啓太・鳥居原英輔・照屋俊明・末永聖武：抗菌性デプシペプチド ミウラエナミド A の合成研究、日本化学会第 90 春季年会

（近畿大学)、2B1-06、2010 年３月 27 日

14. 渡邊　敦・轟　星児・照屋俊明・末永聖武：新規鎖状ペプチド Bisebromoamide の合成研究、日本化学会第 90 春季年会（近畿大学)、2B1-05、2010 年３月 27 日

15. 渡邊　敦・杉山弘和・照屋俊明・末永聖武：海洋産細胞毒性環状デプシペプチド Palau'amide の全合成、日本化学会第 90 春季年会（近畿大学）、2B1-04、2010 年３月 27 日

16. 佐々木宏明・照屋俊明・末永聖武：沖縄産シアノバクテリア *Lyngbya* sp.由来の Bisebromoamide の生物活性、構造活性相関、日本化学会第 90 春季年会(近畿大学)、2A2-04、2010 年３月 27 日

17. 佐々木宏明・照屋俊明・末永聖武：沖縄産シアノバクテリア *Lyngbya* sp.由来の新規鎖状ペプチド Bisebromoamide の単離と構造、日本化学会第 90 春季年会(近畿大学)、2A2-03、2010 年３月 27 日

18. 佐々木宏明、北村和大、照屋俊明、末永聖武：海洋シアノバクテリア由来の新規鎖状ペプチド及びマクロリド配糖体の単離と絶対立体構造、第 51 回天然有機化合物討論会（名古屋）、講演要旨集、p. 37-43、2009 年 10 月７日

19. 杉山　弘和・照屋　俊明・末永　聖武：海洋産細胞毒性環状デプシペプチド Palau'amide の合成研究、日本化学会第 89 春季年会（日本大学）、3J6-30、2009 年３月 29 日

20. 徳住　啓太・鳥居原　英輔・照屋　俊明・末永　聖武：抗菌性デプシペプチド Miuraenamide A の合成研究、日本化学会第 89 春季年会（日本大学）、3J6-29、2009 年３月 29 日

21. 佐々木 宏明、照屋 俊明、末永 聖武：沖縄産ホヤ Didemnum molle 由来の新規ヘキサペプチドの単離と構造決定、新規素材探索研究会第７回セミナー（新横浜）、2008 年 6 月 6 日

６．研究組織

(1)研究代表者

末永 聖武（SUENAGA　KIYOTAKE）
慶應義塾大学・理工学部・准教授
研究者番号：60273215

(2)研究分担者

該当なし

(3)連携研究者

該当なし