

コルジセピンの誘導体化による 分解耐性が高い核酸代謝拮抗剤の開発

研究代表者： 櫻井 明彦（工学系部門・教授）
共同研究者： 山内 高弘（医学系部門・教授）

概 要
冬虫夏草 <i>Cordyceps militaris</i> が生産するコルジセピンは高い生理活性を示すが、生体内ではアデノシンデアミナーゼにより酸化され生理活性が著しく低下する。そこでコルジセピンを基本骨格とする核酸代謝拮抗剤の開発を目指し、カルボン酸無水物によりコルジセピンをアシル化したコルジセピン誘導体の合成を検討した。無水酢酸を用いてアミノ基とヒドロキシ基の全てをアシル化したコルジセピン誘導体、アミノ基だけをアシル化した誘導体の基本合成条件を明らかにすることができた。また、ブチリルコルジセピン混合物とペンタノイルコルジセピン混合物を合成し抗菌性を評価したところ、日和見感染菌に対して増殖抑制効果を示さなかった。
関連キーワード
冬虫夏草、抗腫瘍物質、コルジセピン、増殖抑制、分解耐性

研究の背景および目的

【研究の背景】冬虫夏草サナギタケが生産する固有成分であるコルジセピン (3'-デオキシアデノシン、図1) は、生体内でアデノシンのアナログとして働き、核酸の伸長を阻害することにより抗腫瘍作用を発揮する。*in vitro* 実験では多くのガン細胞に対して抗腫瘍性を示すことが報告されているが、天然のサナギタケの資源量が少ないこと、さらに子実体中のコルジセピン含有量が非常に低いことから工業的な生産には至っていない。また、コルジセピンは *in vivo* 実験では生体内でアデノシンデアミナーゼにより分解されるため、その効果が *in vitro* に比べて低下することが知られている。このため、コルジセピンの大量生産技術および生体内でのコルジセピンの効果を持続させる方法の開発が期待されている。

コルジセピンの生産技術については、当研究室でイオンビーム照射によりコルジセピン高生産変異株の作出に成功し、培養条件の最適化により実用レベルのコルジセピン生産性を得ることに成功している。一方、生体内でのコルジセピンの効果を持続させる方法としては、(1) コルジセピンとともにアデノシンデアミナーゼの阻害剤を投与する、(2) コルジセピンをマイクロカプセルなどに包括して分解速度を低下させる、(3) コルジセピンを化学的に修飾することによって分解性を低下させる、等の方法があるが、生体への影響を考慮すると項目(2)あるいは(3)が有望な手段と考えられる。

【目的】本研究では、生体内での耐分解性が高い新たな核酸代謝拮抗剤の開発を目指し、生体への影響が小さく、最も簡便な方法としてコルジセピ

ンの誘導体化（前項(2)、図2）を検討した。

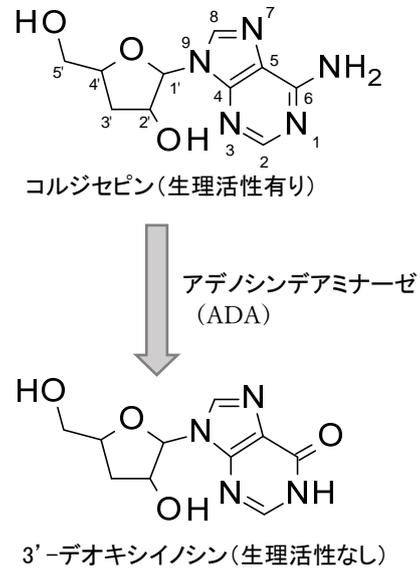


図1 コルジセピンの構造と生体内での不活性化

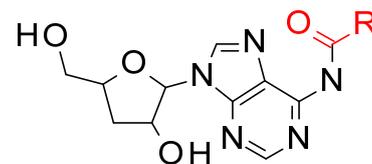


図2 コルジセピン誘導体の一例

研究の内容および成果

【部位選択的なアセチルコルジセピンの合成】コルジセピンの6位アミノ基を無水酢酸によって誘導体化（アシル化）する反応条件について検討した。ピリジン溶媒中で無水酢酸とコルジセピンとを反応させると、6位のアミノ基だけではなく2'位と5'位のヒドロキシ基も反応し、1置換体、2置換体、3置換体のアセチルコルジセピンの混合物が生成した。このため、反応温度を低下させ、カルボン酸無水物/コルジセピン比を変化させて反応を検討したが、アミノ基とヒドロキシ基の両方がアシル化してしまい、アミノ基だけ、あるいはヒドロキシ基だけがアシル化した誘導体は得られなかった。

そこで、部位選択的にアシル化を行う方法として、コルジセピンの全ての反応部位をアシル化した後に一部のアシル基を加水分解する方法（図3）について検討した。その結果、コルジセピンに対して15等量の無水酢酸を加え、ピリジン中で3時間、80℃で加熱した後、触媒としてイミダゾールを加え室温で反応させる事によって、アミノ基と全てのヒドロキシ基がアシル化した3置換体を収率73%で得られた。

次に得られた3置換体の部分加水分解条件について検討し、3置換体をエタノール・ピリジン混合溶媒に溶解し0℃で2MNaOHによる加水分解を行うと、ヒドロキシ基とアミノ基の加水分解速度が異なることが分かった。そこで反応時間と加水分解物の組成比の関係を検討したところ、反応10分間で停止させることにより、ヒドロキシ基部分だけが加水分解されアミノ基部分はほとんど分解していない1置換体が収率61%で得られた。

【長鎖コルジセピン誘導体の合成と抗菌性】

長鎖のアシル基を導入したコルジセピン誘導体の合成をカルボン酸無水物/ピリジン系の反応で検討した。ここでは、カルボン酸無水物として吉草酸無水物（C5）と酪酸無水物（C4）を用いた。吉草酸無水物では、3置換体を70%程度含むペンタノイルコルジセピンの混合物が得られ、酪酸無水物では2置換体を80%程度含むブチリルコルジセピンの混合物が得られた。ペンタノイルコルジセピンは水への溶解性が非常に低かったため、ブチリルコルジセピンについてのみ抗菌性を3種類の日和見感染菌（*Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus epidermidis*）を用いて評価した。

ブチリルコルジセピンは*E. aerogenes*に対して分解耐性を示したが、増殖抑制効果を示さなかった。一方、*E. coli*と*S. epidermidis*に対しては分解耐性が低く、増殖抑制効果もみられなかった（図4）。

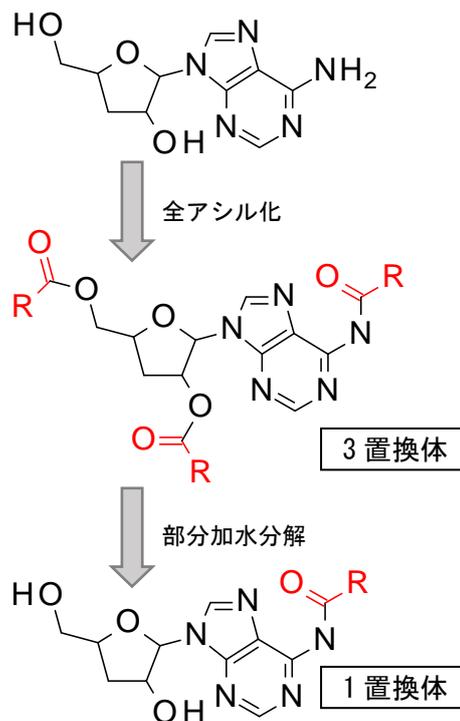


図3 部位選択的誘導体化

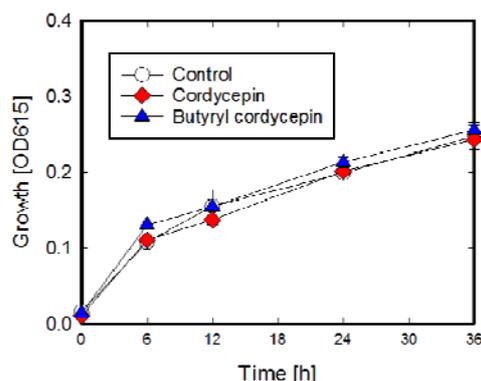


図4 *E. aerogenes* に対する増殖抑制効果

本助成による主な発表論文等、特記事項および競争的資金・研究助成への申請・獲得状況

「主な発表論文等」

- 鈴木章弘、櫻井明彦：冬虫夏草が生産するコルジセピンの誘導体化とその性質、第13回北陸地区化学工学研究交流会（2018.10.26）

- 日本生物工学会で発表予定
- apcche_2019 で発表予定

「特記事項」

コルジセピン誘導体に関する特許を申請予定