

令和 6 年 6 月 12 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K06473

研究課題名(和文) シスCD縮環型ステロイドの立体選択的合成法開発と抗癌性化合物探索への展開

研究課題名(英文) Stereoselective Synthesis of Steroidal Skeleton Having cis-fused C-D Ring System and Search for New Anticancer Compounds

研究代表者

松谷 裕二 (Matsuya, Yuji)

富山大学・学術研究部薬学・和漢系・教授

研究者番号：50255858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：ベンゾシクロブテン(BCB)誘導体の熱反応により生じるオルトキノジメタンの分子内Diels-Alder反応を鍵として、シスCD縮環型ステロイド骨格を構築する方法論について検討を行った。本鍵反応の基質化合物については、A環相当BCB化合物とD環相当アルデヒドとのアルドール反応を経由して、合成することができた。また、その熱反応についても検討を行い、目的とするシスCD縮環型ステロイド骨格を構築することに成功した。また、D環上の酸化変換を念頭に置いたモデル化合物を用いて、天然物アンドラスチンのD環と同じ構造へ導くルート探索を実施するとともに、アンドラスチン類縁体のFTase阻害活性評価へと展開した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

合成法があまり一般化されていない、シスCD縮環型ステロイド骨格を構築する有効な方法を示すことができた。また、同骨格を有し、抗癌性が期待される天然物アンドラスチン類の類縁化合物合成も行い、天然物を上回る活性化合物を見出したことから、本天然物に基づいた構造設計と化学合成が、新規な抗癌性化合物探索の有効なアプローチとなることが示された。

研究成果の概要(英文)：New method for construction of cis-fused steroidal skeleton was investigated using o-quinodimethane intermediate generated from thermal reaction of benzocyclobutene (BCB) derivatives. The substrate of this key reaction was successfully synthesized via aldol reaction between the BCB compound corresponding to A-ring and the aldehyde corresponding to D-ring. The thermal reaction of this substrate afforded the desired cis-fused steroidal compound. In addition, oxidative synthetic routes for the D-ring structure of natural andrastins were investigated using a model substrate, and evaluation experiments of FTase inhibitory activity of the synthesized andrastin analogous compounds were also performed.

研究分野：有機化学

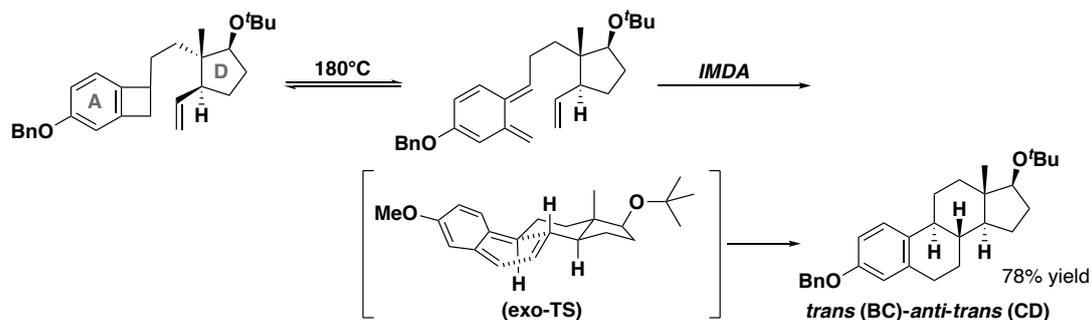
キーワード：オルトキノジメタン 分子内Diels-Alder反応 シスCD縮環型ステロイド骨格

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ステロイド骨格は、“剛直性”を特徴とし、ホルモンや医薬品の母格として、生体内で重要な役割を果たしてきた。このような生理活性ステロイド類の骨格構築法は数多く報告されているが、いずれの方法でも *trans*-CD 縮環型ステロイドの合成が中心となっている。

このようなステロイド骨格構築法の1つに、“オルトキノジメタン (OQM) の発生-分子内 Diels-Alder 反応”による BC 環構築が挙げられる。この方法では、あらかじめ連結させた AD 環フラグメントから、一挙にステロイド骨格 BC 環部分を立体選択的に構築することができ、例えば亀谷らの報告では、下図に例示されるように、*trans*(BC)-*anti-trans*(CD) のステロイド骨格が、最も安定なエキソ遷移状態 (exo-TS) を経て 78% の収率で得られている。



T. Kametani, et al., *Tetrahedron Lett.*, 1978, 19, 2425.

この反応では、遷移状態における *trans*-CD 環部分のコンホメーションが固定されるため、置換基が多少変わった場合でも高い立体選択性が保証されている。このような *trans*-CD 縮環型ステロイド骨格構築は、旧くから精力的に研究されてきたものの、*cis*-CD 縮環型ステロイド骨格構築への適用は極めて限定的である。さらに、OQM の高い反応性を活用した合成法にも関わらず、意外にも 3 連続 4 級炭素を含むステロイド骨格構築への適用例はない。

当研究室では、ベンゾシクロブテン (BCB) 誘導体の熱開裂と、引き続き分子内 Diels-Alder 反応について継続的に研究を行ってきており、当該研究領域には立体選択性を含めて幅広い知見を有している。しかしながら、これまでに *cis*-CD 縮環型ステロイド骨格構築への適用を指向した研究は実施したことがなく、新しく挑戦的な研究テーマであると捉えている。また、*cis*-縮環型の天然物 andrastin 類の抗腫瘍剤としての応用研究も、これまでに報告例は極めて限定的である。

2. 研究の目的

本研究課題の目的は、以下の 2 点に集約できる。

- (1) *trans*-CD 縮環型でしか検討されていない OQM の分子内 Diels-Alder 反応で、3 連続 4 級炭素を含むステロイド骨格を、*trans*(BC)-*syn-cis*(CD) 選択的に構築する。
- (2) この方法論を一般化した上で、*cis*-CD 縮環型 andrastin 類縁体合成への応用と、新規な抗腫瘍剤発掘へと展開する。

3 連続 4 級炭素を含む骨格構築を高い立体選択性で達成することで、OQM ケミストリーの有用性を、これまで以上にアピールする。そして OQM に関する研究室独自の知見を活用し、独特な構造を有する andrastin 由来の構造活性相関研究を展開していくことで、従来とは構造や作用機序の異なる抗がん剤の創出へつなげることを目的とする。

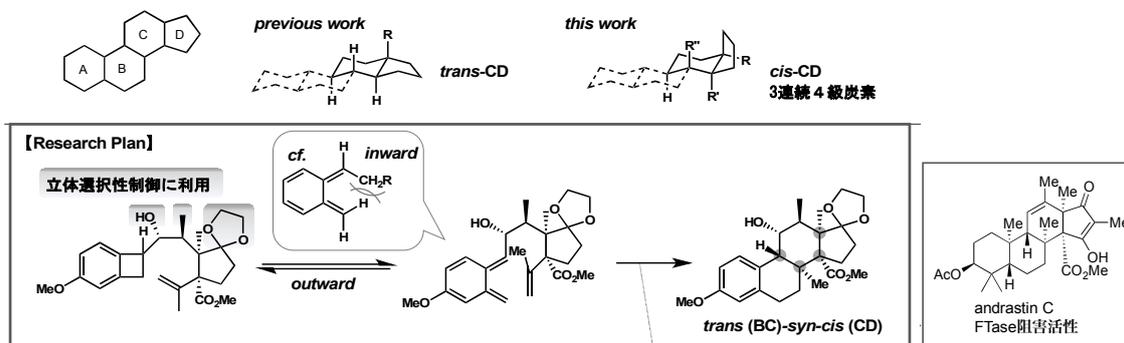
3. 研究の方法

- (1) 鍵反応の基質合成: A 環に相当する BCB 誘導体と、D 環に相当するアルデヒドとのアルドール反応を経由して合成する。
- (2) 鍵反応の検討と最適基質構造の探索: (1) で合成した基質を熱反応に付して、4 環系骨格の構築と立体構造の解析、そして立体選択性についてデータを得る。立体選択性の制御については、C 環に位置する -Me 基の立体化学や、-OH 基の保護基を種々検討することで、チューニングが可能である。
- (3) CD 環部の官能基変換: D 環部の酸化状態を上げるとともに、C 環部の官能基変換を実施して、

A環を芳香環とした andrastin 類縁体を種々合成する。

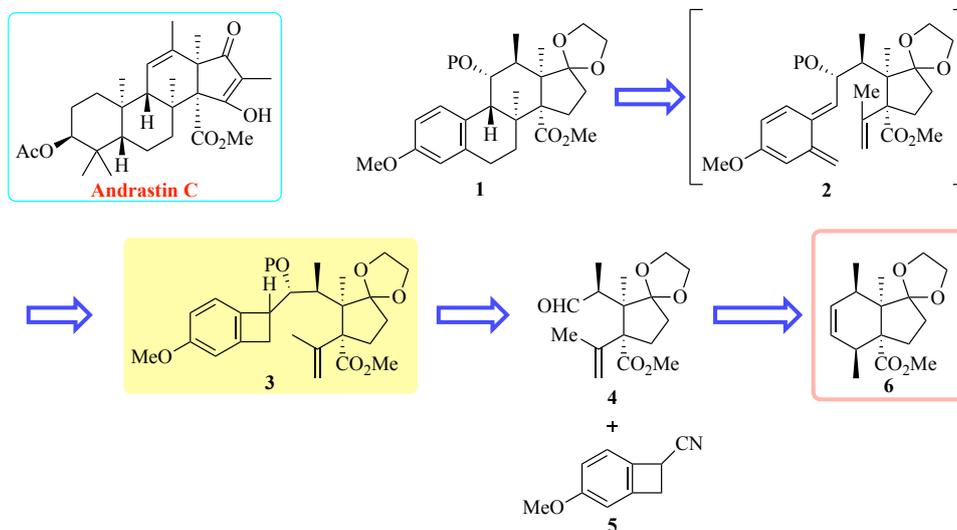
- (4) 合成した andrastin 類縁体の活性評価と構造活性相関研究：andrastin 類は、抗癌剤開発の標的として注目されている FTase（ファルネシルトランスフェラーゼ）の阻害活性を示すことが報告されている。そこで、がん細胞に対する細胞毒性評価および FTase 阻害活性の評価を行い、構造活性相関研究へと展開する。

(下図 Research Plan を参照)

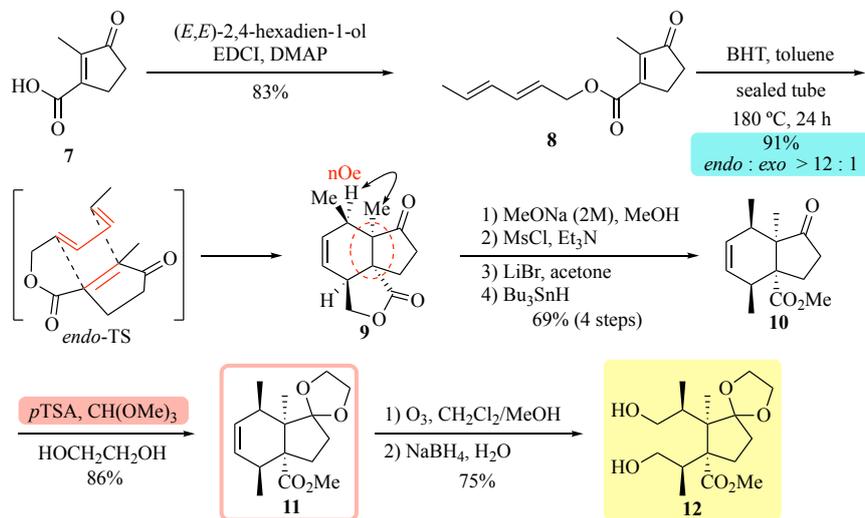


4. 研究成果

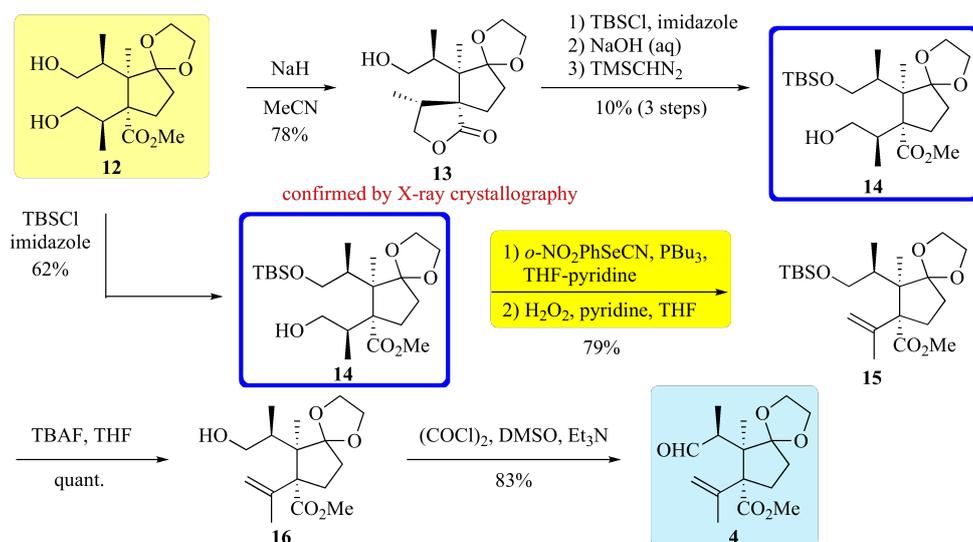
本研究課題の合成標的化合物 (1) の逆合成を、下図に示す。本研究の第一の目的となる「OQM の分子内 Diels-Alder 反応による、3連続4級炭素を含むステロイド骨格の、*trans*(BC)-*syn-cis*(CD) 選択的構築」は、BCB 誘導体 (3) の熱反応に相当する。本鍵反応の基質 (3) は、アルデヒド体 (4) と BCB 誘導体 (5) から誘導が可能とした。アルデヒド体 (4) は、化合物 (6) の酸化開裂により合成できると考えた。



文献既知の出発化合物 (7) に対して、Diels-Alder 反応のジエン構造を含むアルコール体との脱水縮合反応を行い、高収率にて化合物 (8) を得た。この化合物をトルエンに溶解し、sealed tube 中で 180° C に加熱したところ、目的とする分子内 Diels-Alder 反応が首尾よく進行して、*cis* 縮環構造を有する 3 環性化合物 (9) を得ることに成功した。この際、より安定な *endo* 遷移状態を経由して高選択的にエンド付加体が生成しており、その立体構造は下図に示すように *nOe* 観測実験にて確認した。本化合物に対し、ラクトン環の開環、生じた水酸基のメシル化、臭素置換反応、そしてスズヒドリドによる還元反応を経由することで、効率良く 2 環性化合物 (10) へと誘導した。本化合物のケトンカルボニル基をアセタールにて保護し、次いで二重結合の酸化開裂を検討した。最初は、オスミウム酸化を経由する条件について検討を行なったが、良好な結果が得られなかったため、オゾン分解による手法に切り替えて検討を進めた。その結果、水素化ホウ素ナトリウムによる還元処理を含めて、75%という良好な収率にて目的のジオール体 (12) を合成することに成功した。

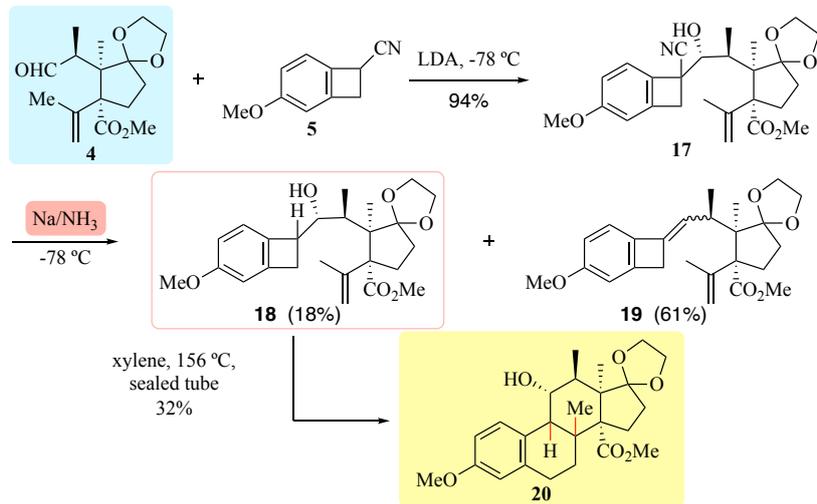


合成したジオール体 (12) の2つの水酸基を選択的に保護する必要があるため、まずは塩基性条件下にて加熱反応を行い、スピロラクトン体 (13) へと誘導した。ここで残った水酸基を TBS 基で保護し、次いでスピロラクトンの開環反応を検討したが、目的の開環体 (14) の生成は 10% という低収率に留まった。そこで、ジオール構造のまま選択的に一方の水酸基のみを TBS 基で保護できないか、検討を行うことにした。詳細な反応条件の検討を行ったところ、低温下にて TBSCl を作用させる条件にて、62% という収率で目的の化合物 (14) へと導けることを見出した。残った水酸基は、セレネニル化-酸化を経由する脱水反応に付すことで、化合物 (15) を得た。そして、TBS 基の除去と引き続く Swern 酸化によって、効率良く D 環に相当するアルデヒド体 (4) を合成することに成功した。

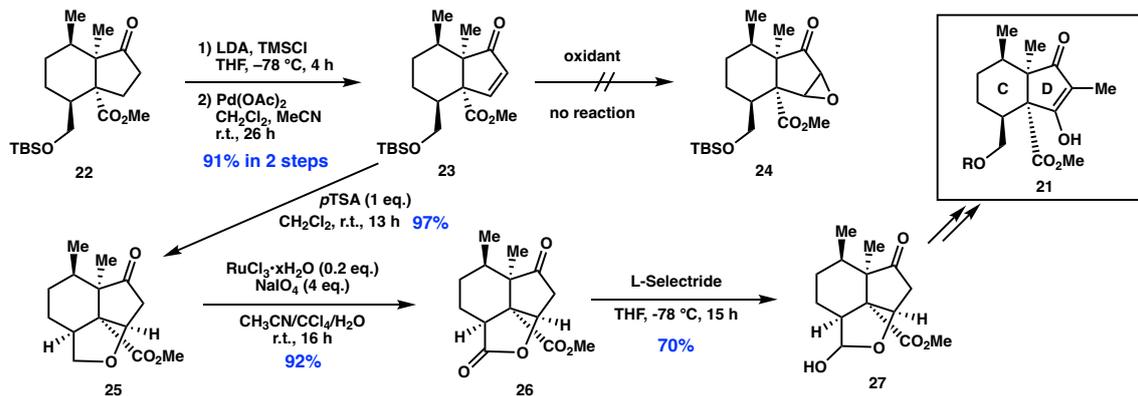


本研究の鍵反応となる OQM の分子内 Diels-Alder 反応を検討するため、その基質となる化合物合成に着手した。D 環に相当するアルデヒド体 (4) と、当研究室で開発した手法で合成した A 環に相当する BCB 誘導体 (5) の、アルドール付加反応を検討した。種々検討の結果、塩基として LDA を用い、 -78°C の低温下にて反応させることで、目的のアルドール付加体 (17) を高収率で得ることができた。次に、シアノ基の還元的除去について検討することにした。液体アンモニア中で金属ナトリウムを用いる条件 (Birch 還元) を用いたところ、18% と低収率ながら目的の脱シアノ体 (18) を得ることができた。しかし、この条件ではかなりの部分が脱水体 (19) に変換されてしまうことが分かっており、より効率の良い方策の検討が必要と考えている。

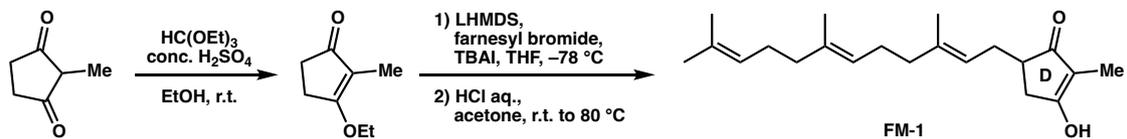
低収率ながらも鍵反応の基質 (18) が得られたので、ステロイド骨格への変換について検討を行った。化合物 18 に対して、キシレン溶媒中 156°C の加熱条件下、sealed tube 中にて反応を行ったところ、32% の収率で目的とする環化付加体 (20) の生成が確認できた。現在のところ、得られた化合物の量が十分でないため、ステロイド骨格全体の立体化学の解析には至っておらず、収率向上のための条件検討も含めて、今後の課題であると考えている。



上記の検討と並行して、D環部の酸化状態を上げるためのモデル検討も実施した。上述の中間化合物(9)のメタノール分解、TBS化、接触還元にて得られる化合物(22)をモデル化合物として、D環の酸化変換により化合物(21)へと導くルートについて検討を行った。まず22のSaegusa酸化は高収率にて進行し、共役エノン(23)を得た。この化合物をエポキシ化に付して、さらに酸化状態を上げることを検討したが、本変換は全く反応が進行しなかった。一方、共役エノン(23)は酸性条件下でTBS基の除去とともに環化が進行することが判明し、25を高収率で与えた。さらにルテニウム酸化、ラクトンのラクトールへの変換を経て、27の合成に成功しており、今後さらに化合物(21)への変換を検討していく予定である。



さらに、andrastin類縁体の活性評価と構造活性相関研究の一環として、活性発現に重要とされるD環部にファルネシル基を導入した新規化合物(FM-1)を下記に従って化学合成し、FTase阻害活性の評価を実施した。その結果、FM-1が天然物であるandrastin Aを上回る活性を示すことが判明した。この知見は、andrastin骨格の単純化による化合物設計が、新しい抗がん性FTase阻害化合物の探索に有効なアプローチであることを示している。



compound	Inhibition ratio (%)	
	100 μ M	1 μ M
Andrastin A	38.2 \pm 1.0	3.3 \pm 1.1
FM-1	73.6	8.9

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 北村文乃, 高坂彩乃, 谷岡卓, 松谷裕二
2. 発表標題 アンドラスチン類のCD環構造の合成研究
3. 学会等名 2023年度有機合成化学北陸セミナー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大久保諭, 谷岡卓, 松谷裕二
2. 発表標題 AndrastinC及び類縁化合物の合成研究
3. 学会等名 2023年度有機合成化学北陸セミナー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 北村文乃, 高坂彩乃, 谷岡卓, 松谷裕二
2. 発表標題 抗腫瘍薬アンドラスチン類のCD環構造の合成研究
3. 学会等名 第49回反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 北村文乃, 高坂彩乃, 谷岡卓, 松谷裕二
2. 発表標題 アンドラスチン類の C,D 環骨格をモデルとした新規誘導体の合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 高坂彩乃, 高山亜紀, 宮川佳己, 帯田孝之, 横山武司, 水口峰之, 松谷裕二
2. 発表標題 アンドラスチン類をモデルとした新規ファルネシルカルボン酸誘導体の合成研究
3. 学会等名 2022年度有機合成化学北陸セミナー
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 北村 文乃, 高坂 彩乃, 谷岡 卓, 松谷 裕二
2. 発表標題 新規FTase阻害剤の創出を目的としたAndrastine類似化合物の合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------