

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：35409

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15286

研究課題名(和文) 熱エネルギーを利用した天然由来新規抗がん剤シーズの合成と探索研究

研究課題名(英文) Synthesis and exploratory research of new anticancer drug seeds using thermal energy

研究代表者

西山 卓志(Nishiyama, Takashi)

福山大学・薬学部・講師

研究者番号：00710914

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 1,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究課題では、Calothrixin類の化学構造と抗腫瘍活性との関係を検討した。その中で、calothrixin類の化学構造を変換可能な新たな合成法として、calothrixin類のコア構造であるインドロ[3,2-j]フェナンスリジン骨格を熱エネルギーを利用した電子環状反応により構築することができた。また、calothrixin誘導体の新しい合成アプローチを確立し、これまでに報告例のなかったインドロ[3,2-j]フェナンスリジン骨格のA、D、E環部の構造を変換した誘導体を合成することができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

Calothrixin類の研究は、肺がんモデルマウスを使った動物実験が実施され、生体内での作用メカニズムを解明する研究が進められつつある。その対象となったcalothrixin誘導体は、B、D環にある2つの窒素原子とE環への官能基導入されたもののみである。今回の研究で、calothrixin誘導体の新しい合成アプローチを確立し、calothrixin BのA、D、E環へ官能基を導入した誘導体を合成し、スクリーニングを実施することは、生体内での作用メカニズムの解明に貢献できたと考える。また、本合成法は、これまでの方法論とは全く異なることから、有機合成化学の観点から実施した意義は大きいと考える。

研究成果の概要(英文)：We developed a concise protocol for the synthesis of calothrixin B from the appropriate 3-iodoindole-2-carbaldehydes in six steps. The key step is the construction of indolo[3,2-j]phenanthridine through tandem Suzuki-Miyaura coupling reaction and thermal electrocyclization reaction. Therefore, the calothrixin B analogs possessing substitution at the 9-position were synthesized using this method. The calothrixin B analogs were evaluated for antiproliferative activity against HCT-116 cell line.

研究分野：有機合成化学

キーワード：抗腫瘍活性 構造活性相関 calothrixin 電子環状反応

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

Calothrixin 類は、1999 年に発見されたインドール (A, B 環部分)、キノン (C 環部分)、ピリジン (D 環)、ベンゼン (E 環) が縮合した 5 つの環をコア構造とするカルバゾールアルカロイドである (図 1)。生物活性として、抗腫瘍作用や抗マラリア作用を示す。Calothrixin 類に関する発表論文は 100 編以上、そのうち全合成に関する発表論文は 44 編あり、現在も calothrixin 類に関して活発な研究が行われている。

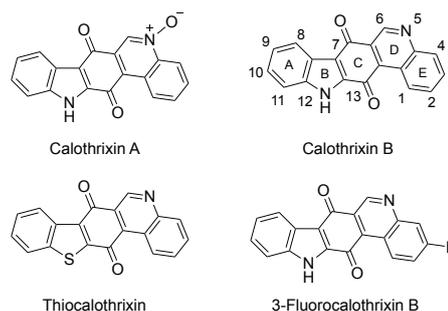


図1: Calothrixin類の化学構造とその誘導体

Calothrixin 類の抗腫瘍作用メカニズムとして、インターカレーション作用やトポイソメラーゼI 阻害作用が報告されている。これらの作用発現には、5 つの環構造が平面構造をとること、あるいは C 環のキノン部や D 環の窒素原子が薬物標的分子と結合することで、抗腫瘍作用を示すことが報告されている。また、抗腫瘍作用の強弱は、B 環窒素原子と E 環の構造に大きく影響を受ける。申請者のグループは、これまでに calothrixin 類の B 環窒素原子にアルキル基を導入すると抗腫瘍作用が増強することを明らかにしている (N. Hatae, T. Nishiyama, *et al.*, *Med. Chem. Res.*, 2014, 23, 4956)。近年では、calothrixin 類の B 環窒素原子を硫黄に変換した thiocalothrixin B (E. Vellaichamy *et al.*, *PLoS one*, 2018, 13, 1.) や calothrixin B の E 環にフッ素原子を導入した 3-fluorocalothrixin B (A. K. Mohanakrishnan *et al.*, *J. Med. Chem.* 2018, 61, 1285.) が肺癌モデルのラットの腫瘍に対して選択的に作用することが報告されている。しかし、calothrixin 類の抗腫瘍作用と 5 つの環構造の関係についての報告例は、少なく限られている。その原因として、calothrixin 類のこれまでの合成例は、いずれも全合成を目的とした報告例が多く、calothrixin 類の化学構造を変換できる合成法が極端に少ないことが挙げられる。そのため、calothrixin 類の基本骨格の変換や官能基化には限界があるため、抗腫瘍作用に必要な化学構造の解明は、現在でも困難な研究であり、未だ成功していない。

### 2. 研究の目的

本研究では、calothrixin 類の化学構造と抗腫瘍活性との関係を解明することである。そのために、既存の合成法では合成困難な新規 calothrixin 誘導体のライブラリー化が重要である。そこで、calothrixin 類の抗腫瘍作用の構造活性相関の解明を目的に、既存の合成法では合成困難な calothrixin 誘導体合成法を確立し、新規化合物ライブラリーの構築を目指し、本研究を実施した。

### 3. 研究の方法

ペリ環状反応の一つである電子環状反応は、Diels-Alder 反応、シグマトロピー転位などと合成化学的観点から比較すると、格段に活用されていなかった。中でも 6π 電子系電子環状反応は、トリエン系 (A) に熱あるいは光とい

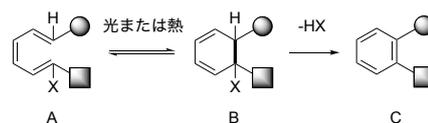


図2: 電子環状反応

うクリーンな条件で環化反応が進行し、cyclohexadiene (B) を可逆的に生成することが知られていたが、更なる活用・展開がなされていない状況であった。申請者のグループは、熱エネルギーを利用した電子環状反応 (A→B) とともに脱離・芳香化が連続して進行する条件 (B→C) を見出し、様々な化学構造を持つ芳香族化合物のコア構造の構築に活用してきた (図 1)。そこで、

本法をコア構造合成に活用することで、calothrixin 類の化学構造を変換可能な新たな合成法を開発することができる考えた。

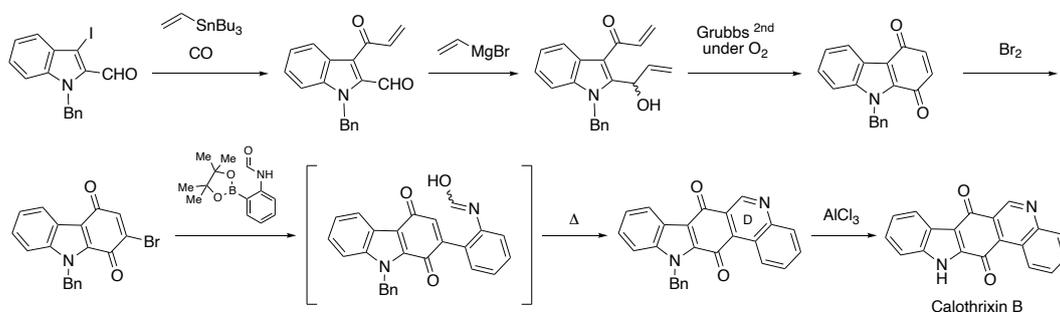
#### 4. 研究成果

申請者は、calothrixin 類の化学構造を変換することが薬物標的分子との結合能を変化させると考えた。そこで、本研究では、calothrixin 類の A、D、E 環の構造変換が可能な合成法を開発し、calothrixin 誘導体を合成する。合成した calothrixin 誘導体のヒトがん細胞に対する細胞増殖抑制活性を評価する。

##### 1. Calothrixin 類の構造を変換できる合成法の開発

申請者は、これまでにカルバゾール-1,4-キノン骨格の簡便な合成法を確立し、抗腫瘍作用に関する研究を推進してきた。まずは、カルバゾール-1,4-キノン誘導体を原料として活用した天然物である calothrixin B の全合成を行った。合成計画として、上述した電子環状反応により calothrixin B のピリジン環 (D 環) 構造を構築する方法である。

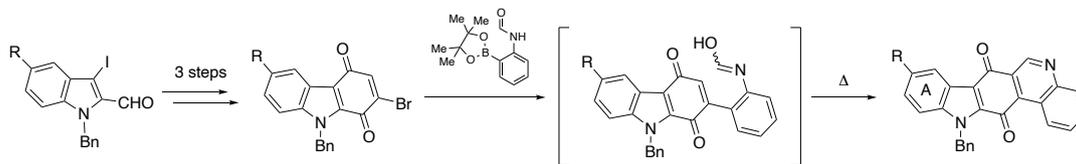
インドール誘導体 1 から 2 工程で誘導した 3-acryloyl-2-(horoxyprop-2-en-1-yl)indole 2 に対し、酸素気流中 Grubbs 触媒存在下、閉環メタセシス(Ring Closing Metathesis; RCM)反応に付すことで、環化と脱水素化反応が連続して進行し、高収率でカルバゾール-1,4-キノン 3 を得た。続けて、カルバゾール-1,4-キノンの 2 位を臭素化した後に、アニリン誘導体との鈴木・宮浦カップリング反応に付すと、カップリング反応に続き、電子環状反応が連続して進行し、calothrixin B の基本骨格であるインドロ[3,2-j]フェナンスリジン骨格を一挙に合成することができた。最後にベンジル基を脱保護することで、calothrixin B の全合成を達成することができた。以上の結果から効率的な calothrixin B の合成経路の開発に成功した (Scheme 1)。



Scheme 1

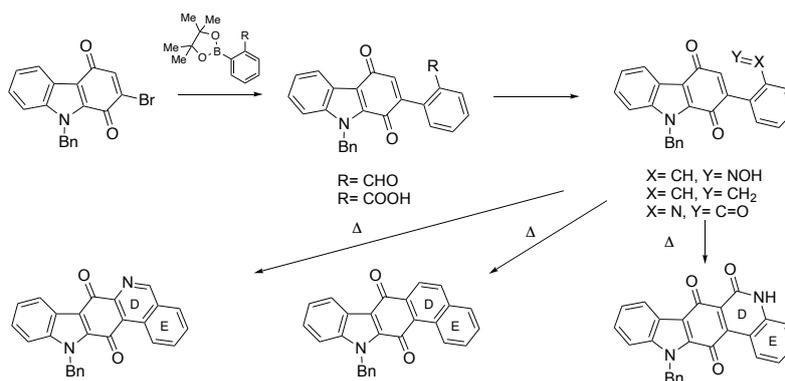
##### 2. Calothrixin 誘導体の合成と抗腫瘍活性評価

**A 環:** 申請者のグループは、これまでにカルバゾール-1,4-キノンの A 環に電子供与基や電子求引基を導入することで抗腫瘍作用が増強することを明らかにしている。Calothrixin 類は、化学構造が類似していることから同様の傾向が見られると推測される。そこで、インドロ[3,2-j]フェナンスリジン骨格の 9 位に官能基をもつ calothrixin 誘導体の合成を実施した。インドール 5 位に官能基をもつ化合物から 4 工程で、2-ブロモカルバゾール-1,4-キノンを合成し、上記の方法論を応用することで、一挙にインドロ[3,2-j]フェナンスリジン骨格を構築することができた。その結果、これまでに報告例のない電子供与性基やハロゲンをもつ calothrixin 誘導体を合成することができた (Scheme 2)。現在、電子求引性基を持つ誘導体の合成および合成した誘導体を用いた抗腫瘍活性評価試験を継続中である。



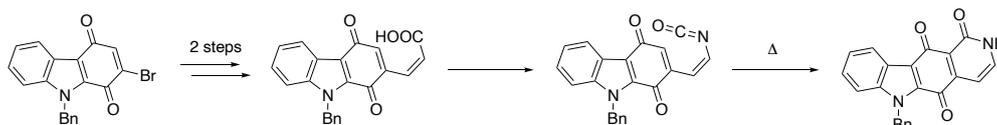
Scheme 2

- (1) **D環** : Calothrixin 類の D 環窒素原子は、腫瘍細胞 DNA との相互作用することで抗腫瘍作用の発現に重要な役割を果たしている。しかし、calothrixin 類の D 環の構造を変換した誘導体の抗腫瘍活性に関する報告例が少ない。そこで、種々のトリエン系化合物に対し、上述した電子環状反応を行うことで calothrixin 類の構造異性体の合成を実施した。2-ブロモカルバゾール-1,4-キノンに対し、鈴木-宮浦カップリング反応を行い、カップリング体を得た。カップリング体から種々のトリエン系化合物を合成し、電子環状反応を行うことで、これまでに報告例のない calothrixin 類の D、E 環部のキノリン構造をイソキノリン、ナフタレン、キノロンに変換した calothrixin 誘導体を合成することができた (Scheme3)。今回合成することができた誘導体について、HCT-116 細胞を用いて抗腫瘍活性評価試験を実施した。しかし、いずれの誘導体においても抗腫瘍活性は示したものの、calothrixin 類の抗腫瘍活性と同程度あるいは低い活性を示すことが明らかとなった。



Scheme 3

**E環** : Calothrixin 類の複素環フレームワークを変換する目的で、E 環をもたない四員環化合物の合成を実施した。Ellipticine quinone は、抗腫瘍活性アルカロイドである ellipticine の合成中間体として知られており、これまでに高い抗腫瘍活性を示すことを報告されている。上述した電子環状反応を行うことで ellipticine quinone 誘導体の合成が可能であると考えた。2-ブロモカルバゾール-1,4-キノンに対し、ヘック反応で二重結合を導入後、種々のトリエン系化合物に対し、電子環状反応を行うことで ellipticine quinone 誘導体を合成することができた (Scheme 4)。現在、合成した誘導体を用いた抗腫瘍活性評価試験を継続中である。



Scheme 4

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 西山卓志	4. 巻 141
2. 論文標題 創薬を志向したカルバゾール系化合物の新規合成法開発と医薬素材の探索研究	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 YAKUGAKU ZASSHI	6. 最初と最後の頁 1281 1288
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/yakushi.21-00141	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Takashi Nishiyama, Mari Murakami, Kimiko Taninaka, Erina Hamada, Mai Endo, Daiki Kinou, Noriyuki Hatae, and Tominari Choshi	4. 巻 1
2. 論文標題 Synthesis of Pyrrolo[2,3-c]quinoline Alkaloid Marinoquinolines	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Heterocycles	6. 最初と最後の頁 300 310
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3987/COM-20-S(K)14	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 西山卓志、大久保葵、沖原はる菜、重森亮有樹、波多江典之、町支臣成
2. 発表標題 熱エネルギーを利用したcalothrixin誘導体の合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第142年会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 西山卓志、濱田恵里菜、高橋弘明、波多江典之、町支臣成
2. 発表標題 熱電子環状反応を活用したtrigonoine Bの全合成研究
3. 学会等名 第47回反応と合成進歩シンポジウム
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 西山卓志、山口雄士、大久保葵、沖原はる菜、本屋敷敏雄、波多江典之、町支臣成
2. 発表標題 Calothrixin Bの全合成および誘導体の合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2022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
---------	---------