

機関番号：12601

研究種目：若手研究B

研究期間：H21～H22

課題番号：21790009

研究課題名（和文）類縁体合成を志向したトリプロスタチンの合成研究

研究課題名（英文）Synthetic Studies on Tryprostatins for the Development of Versatile Analogs

研究代表者

下川 淳 (SHIMOKAWA JUN)

東京大学・大学院薬学系研究科・助教

研究者番号：60431889

研究成果の概要(和文):がんの治療においては新しい薬物療法が常に重要な位置を占めている。本研究では新たな抗がん剤として有望なトリプロスタチンAとBの合成について検討を行った。その結果、オルトアルケニルイソシアニドのラジカル環化反応と続くパラジウムカップリング反応によって2,3-二置換インドール骨格を構築することに成功し、トリプロスタチンA及びBの全合成を達成した。また大量合成法への展開及び類縁体合成についても検討を行った。

研究成果の概要(英文): Establishment of the reliable conditions for the radical-mediated indole construction has made it possible to achieve the highly efficient synthesis of tryprostatins A and B. Lowering the reaction temperature by means of V-70, a radical initiator, suppressed the radical rearrangement to give the desired indoles as the major products.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
平成21年度	2,100,000	630,000	2,730,000
平成22年度	1,200,000	360,000	1,560,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：医歯薬学

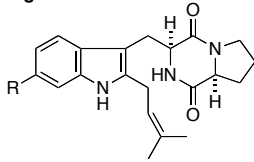
科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：合成化学、生理活性物質の全合成、ラジカル反応、トリプロスタチン

## 1. 研究開始当初の背景

高齢化社会を迎え、様々な難治性疾患の克服が社会からの要求としてますます切迫している現在において、新たな抗がん剤の開発に対する期待は非常に高い。そのような中、新たな抗がん剤シーズの発掘は火急の任務と云うことができるだろう。私はその中でも特に新たな活

Figure. 1

tryprostatin A (1a, R = OMe)  
tryprostatin B (1b, R = H)

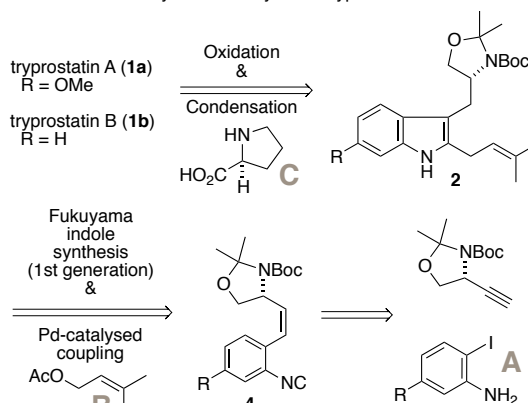
性発現メカニズムをもって抗がん作用を発揮する化合物に興味を抱いている。そこで微小管重合の阻害を新たなメカニズムにより引き起こすことが最近明らかとなったトリプロスタチン類に着目した。私は高度に収束的な方法論を適用することでその合成研究を遂行する。またその収束的な合成における知見を最大限用いることで各種の類縁体を合成し、より強力なトリプロスタチン類縁体の開発を推し進めることを計画した。以下その詳細について述べることにする。

トリプロスタチン類 (**1a, 1b**) は、大井川河口付近の海底の堆積物から採取された *Aspergillus fumigatus* の BM939 株二次代謝産物の混合物から単離されるインドールアルカロイドである。単離および構造決定は、1995 年に理化学研究所の長田らによってなされ、インドール 2 位にプレニル基を有するトリプトファンとプロリンが縮合したジケトピペラジン骨格を持つ化合物であることが明らかにされた [*J. Antibiot.* **1995**, *48*, 1382]。トリプロスタチン A (**1a**)、トリプロスタチン B (**1b**) は *tsFT210* 細胞の細胞周期を G2/M 期において阻害するが、その活性発現機構はこれまでの微小管作用薬とは異なったものであることがわかっている [*Biochem. J.* **1998**, *333*, 543]。すなわちチューブリンの重合を促進する微小管結合蛋白質 MAP-2 (microtubule-associated protein 2) 及び tau タンパクと微小管の C 末端との間の相互作用に影響を与えることにより、微小管重合を阻害する。このような作用機構を持つ小分子天然有機化合物は今まで他に知られておらず、活性発現機構の解明を詳細に行うことができれば新たな抗がん剤としての可能性が期待される。またチューブリン同士の結合を直接に阻害、あるいは促進する作用を持つ既存の微小管標的薬はいくつか存在するが、異なる作用点を持つ場合、交叉耐性を持たないことが期待できる。そのため、既存の薬剤に耐性となったがん細胞に対しても治療効果をあげられる可能性がある。トリプロスタチン類はすでにいくつかの研究グループによって合成がなされている。その中でもコロンビア大学の Danishefsky らはトリプトファン保護体をクロロインドレニンとした後、プレニルスズと三塩化ホウ素より系中で発生させたアリルボロンを作用させることによってインドール 2 位に対して選択的にプレニル基を導入することに成功し、その後ジケトピペラジン環を構築することで見事にトリプロスタチン B の合成を行っている [*J. Am. Chem. Soc.* **1996**, *118*, 12463]。本合成法は天然物の合成法としては非常に効率的だと言いうことができるが、種々の類縁体を合成することを考えた場合にはトリプトファン類縁体をそれぞれの類縁体に対してそれぞれ別個に合成する必要があり、必ずしも効率的な方法論であるとはいえなかった。

## 2. 研究の目的

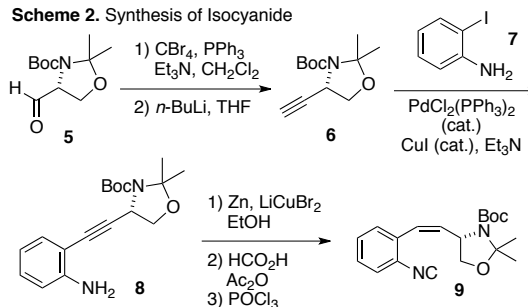
私は種々の類縁体合成を視野に入れたトリプロスタチン類の合成法を開発することを目的として、研究を行うこととした。トリプロスタチン類は一見単純な構造を持つ化合物だが、類縁体をも容易に合成しうるような合成法、すなわち (1) 芳香環上に様々な置換基を簡便に導入することが可能であり、

Scheme 1. Retrosynthetic Analysis of Tryprostatins



(2) かつインドールの 2,3 位に対して自由に置換基を導入でき、(3) さらにジケトピペラジン部位の立体化学も制御できるような合成法は未だ開発されていない。これらの課題のうち最も問題となると考えられるのが 2,3 位ともに置換されたインドールの効率的合成法である。私はトリプロスタチン類を合成するにあたり、この問題を当研究室で開発されたインドール合成法 [*J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3127] を用いて解決することを計画している (Scheme 1)。すなわち **4** のようなイソシアニドをラジカル環化条件下、トリブチルスズラジカルと反応させることによってインドール環を構築することが可能であると考えられる。生成する 2-スタニルインドールに対してパラジウム触媒によるカップリング反応を用いてプレニル基を導入することで 2,3 位が共に置換されたインドール **2** へと変換できる、ここから **1** への変換は容易であると考えられた。このような収束的な合成において化合物のベンゼン環部位 (**A**)、側鎖部位 (**B**)、最後に縮合するプロリン部位 (**C**) のブロックの組み合わせによって合成を行うと捉えると、多様なブロックを準備することでそれぞれのブロック数の積 ( $A \times B \times C$ ) に当たる数の類縁体合成が可能となり、トリプロスタチン類の構造活性相関研究に多大な貢献ができるものと考えられる。これら A, B, C のブロックは構造的な単純性からそれぞれ安価な原料より容易に調整可能であるため、多様な類縁体の合成が期待できた。

Scheme 2. Synthesis of Isocyanide



### 3. 研究の方法

目的にて説明した方法論に従い、当研究室で開発したインドール合成法および引き続き Stille カップリングによりトリプロスタチン類に見られる 2,3 位置換インドール骨格を構築し、トリプロスタチン A 及び B を合成する。

Scheme 2, 3 に合成計画を示した。容易に合成可能な Garner アルデヒド(5)に対して Corey-Fuchs 反応を行うことで対応するアルキン体 6 を合成することが可能である。菌頭カップリング反応は非常に穏和な条件でアルキンとハロゲン化アリールとのカップリングを行うことが可能であり、6 と 7 の連結も容易に実現可能だと考えられる。カップリング体 8 を我々の開発したインドール合成法の基質とするためには三重結合を二重結合へと還元する必要があるが、8 のような共役したアルキンはしばしば目的物と過剰還元体との混合物を与えるなど、選択的な変換が難しいことが知られている。我々はすでに Leustroducsin B の合成研究から、このような場合には活性化された亜鉛と LiCuBr<sub>2</sub> を用いる方法[*Synth. Commun.* **1990**, *20*, 3421]により、非常に高い選択性をもって還元反応が進行することを見いだしている[*J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 4048]。このようにして得られるアニリン体はホルミル化の後に脱水反応を行う通常の方法を用いることにより対応するイソシアニド 9 へ変換を行うことが可能である。

我々の開発した第一世代インドール合成法[*J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3127]を適用することとした。すなわちトリブチルスズラジカルがイソシアニドと反応することによりイミドイルラジカルが生成し、5-exo 環化反応を行った後に水素化と引き続き異性化を経ることによって 2-スタニルインドールを生成する。

また我々の行った種々の予備実験によりラジカル環化反応においては望みの 5-exo 環化だけでなく 6-endo 環化も進行し、熱力学的に安定なベンジルラジカルの水素化によって生成するジヒドロキノリン体を与えることが分かっている。このような副反応はラジカル環化中間体において速度論的に生成するラジカルが安定化されない場合に逆反応が進行することで引き起こされるため、今回の基質もその例外ではない。そのため速度論的に優先して生成する 5-exo ラジカル中間体を低温下速やかに水素化することが必要である。そこで我々は通常用いられる AIBN ではなく、より低温でラジカルを発生することが可能だと示されている V-70[*Org. Proc. Res. Dev.*, **1998**, *2*, 250]を用いることを計画している。

2-スタニルインドールは酢酸プレニルと

の Stille カップリング反応によって 2 位にプレニル基を有する所望の二置換インドールへとワンポットでの変換が期待できる。天然体のトリプロスタチン A と B の合成法を確立した後に、多数のトリプロスタチン類縁体を合成することを計画した。またそれらの活性評価を行うことで構造活性相関について検討を行い、より強い活性と高い選択性を有する類縁体を見いだすことで医薬品への展開も考えられる。また構造改変が活性にあまり影響しない部位を特定できれば、その周辺から炭素鎖を伸ばし、検出可能な部分構造を導入することでケミカルプローブを合成することが可能であり、標的タンパクにおける結合部位特定をも含めた研究へと進めていくことができる。

### 4. 研究成果

平成 21 年度は当研究室で開発したインドール合成法および引き続き Stille カップリングによりトリプロスタチン類に見られる 2,3 位置換インドール骨格を構築し、トリプロスタチン A 及び B を合成する検討を行った。我々の開発した第一世代インドール合成法[*J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 3127]を適用するとオルトアルケニルイソシアニドに対して以下のような変換が期待できる。すなわちトリブチルスズラジカルがイソシアニドと反応することによりイミドイルラジカルが生成し、5-exo 環化反応を行った後に水素化と引き続き異性化を経ることによって 2-スタニルインドールを生成するというものである。また予備実験からも分かっていたことだがラジカル環化反応においては望みの 5-exo 環化だけでなく 6-endo 環化も進行し、熱力学的に安定なベンジルラジカルの水素化によって生成するジヒドロキノリン体を与えることが分かっている。このような副反応はラジカル環化中間体において速度論的に生成するラジカルが安定化されない場合に逆反応が進行することで引き起こされると考えられるため、今回の基質においてもそのような反応が予想された。実際検討を行ったところほぼ 1:1 という不満の残る結果が得られた。そのため速度論的に優先して生成する 5-exo ラジカル中間体を低温下速やかに水素化するべく種々のラジカル環化条件を試みたところ、我々は通常用いられる AIBN ではなく、より低温でラジカルを発生することが可能だと示されている V-70 を用いることによりほぼ完璧な選択性で望みのインドール体を得ることに成功し、その後の Stille カップリングにより 2,3 二置換インドールを構築することに成功した。

平成 22 年度はこれに引き続きトリプロスタチン類の全合成及び類縁体合成研究を行った。インドール環上窒素原子の保護に続き、

アセトニドの除去と TEMPO を用いたアルコールからカルボン酸への酸化を経てトリプトファン骨格を構築した。プロリンメチルエステルとの縮合には HATU を用いた方法が有効であり、これにより炭素骨格をすべて持ち合わせる中間体を合成することに成功した。この後、Boc 基の除去と環化によるジケトピペラジン骨格の構築に際して種々の脱保護法を検討した結果、NMP 中で 230°C に加熱するのみで二つの Boc 基の脱保護が進行し、引き続き環化反応が進行することでトリプロスタチン B の全合成が行えることを見出した。同様に原料にメトキシ基を持つ基質から合成を行い、トリプロスタチン A の合成にも成功した。これに加え、トリプロスタチン類の類縁体合成についても種々の検討を行った。具体的にはジケトピペラジン骨格を構築した後に不飽和結合を導入することについて検討を行い、原料に *cis*-3-ヒドロキシプロリンを用いた場合には脱水反応を経て不飽和プロリン骨格を合成できることを見出し、アミドの酸化法として松尾らによって報告されている方法を用いることによって不飽和トリプトファン構造を有する類縁体の合成にも成功した。本研究の合成法は今まで知られているものに比べて大量合成可能であり、類縁体合成も容易である。そのため、これらの結果は論文として合成化学分野でのトップジャーナルである *Angewandte Chemie International Edition* に掲載された [*Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9262]。今後、さらなる類縁体合成及び構造活性相関研究を行う予定である。

#### 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 2 件)

- 1) Takayuki Yamakawa, Eiji Ideue, Jun Shimokawa, Tohru Fukuyama, "Total Synthesis of Tryprostatins A and B" *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, 49, 9262-9265. 査読有り
- 2) Takayuki Yamakawa, Eiji Ideue, Yuzo Iwaki, Ayumu Sato, Hidetoshi Tokuyama, Jun Shimokawa, Tohru Fukuyama, "Total Synthesis of Tryprostatins A and B" *Tetrahedron*, 印刷中. 査読有り

[学会発表] (計 6 件)

- 1) 下川 淳 "Synthetic Studies on (-)-Gelsemoxonine" ICCEOCA-4 2009/11/29 (タイ国バンコク)
- 2) 下川 淳 "Development of Convenient Reagents for Facile Syntheses of Diazoacetates and Oximes" IKCOC-11

- 2009/11/9 (リーガロイヤルホテル京都)
- 3) 下川 淳 「スルホニル基の特性を活用した新規ジアゾ酢酸エステル及びオキシム合成法の開発」第 28 回メデイシナルケミストリーシンポジウム 2009/11/25 (東京大学安田講堂)
- 4) 下川 淳 「ゲルセモキソニンの合成研究」若手研究者のための有機化学静岡セミナー 2010/1/29 (静岡県立大学)
- 5) 下川 淳 "Synthetic Studies on (-)-Gelsemoxonine" The 21st French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry 2010 年 5 月 9-12 日 (京都)
- 6) 下川 淳 "Synthetic Studies on Gelsemoxonine" Pacificchem2010 2010 年 12 月 15-20 日 (Honolulu, 米国)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

- 出願状況 (計 0 件)
- 取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~fukuyama/index-j.htm>

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

下川 淳 (SHIMOKAWA JUN)

東京大学・大学院薬学系研究科・助教  
研究者番号：60431889

##### (2) 研究分担者

なし

##### (3) 連携研究者

なし