

論文の内容の要旨

論文題目 新規水溶性タキソイドT-3782の創製と合成

氏名 山口 哲央

1. はじめに

天然物パクリタキセル **1** と、*in vivo* 抗腫瘍活性が **1** より強いドセタキセル **2** は、種々の固形癌に対して高い有効治療率を示す、臨床で最も注目されている抗腫瘍薬のひとつである。しかしながら、**1** および **2** には、白血球減少等の副作用

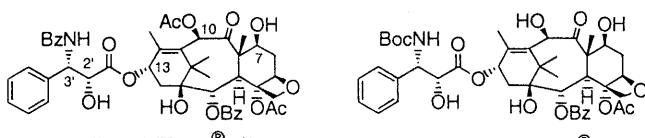


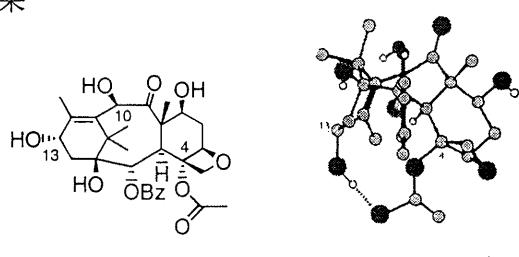
Figure 1

の発現、大腸癌等への低感受性が報告されている。さらに、これら薬剤は水への溶解度が<0.05 mg/ml と極めて低く、このことが臨床で使用する際の大きな問題点となっている。

筆者は、これら問題点の解決を目指し、以下の検討を行った。1) **2** よりも優れた抗腫瘍作用を有する新規タキソイドの創製。2) 新規タキソイドの水溶性プロドラッグの創出。

2. 新規 13 位側鎖を有するタキソイドの合成と抗腫瘍効果

タキソイドの活性発現には、13 位側鎖の存在が必須である。これまでに 13 位側鎖部分の修飾例が多数報告されているが、これらは、天然物 10-デアセチルバッカチン III **3** のアシル化により合成されている。しかしながら、**3** の 13 位水酸基は、立体的に障害の大きい位置にあり、かつ 4 位アセトキシ基と水素結合をしているために極めて反応性が低い(Fig. 2)。従って、効率的な 13 位側鎖導入法は数少なく、この点が 13 位側鎖部分の広汎な構造活性関係研究を困難にしている。

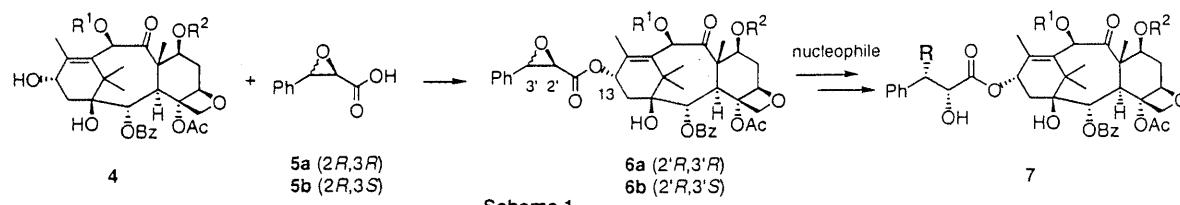


10-deacetyl baccatin-III (3)

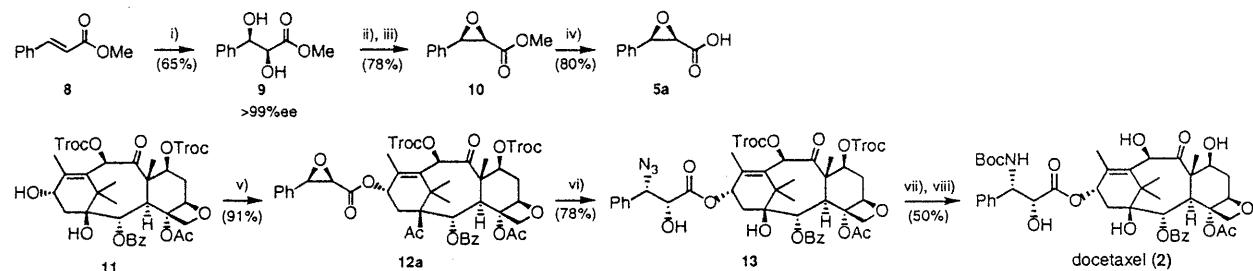
3の立体構造

Figure 2

筆者は、既法では合成困難と考えられる誘導体合成をも可能とする、効率的かつ柔軟性のある新規 13 位側鎖導入法の開発を検討した。すなわち、立体障害が少ないためバッカチン III 誘導体とのカップリング反応が容易に進行すると期待され、しかも後の工程で 3'位の構造変換が比較的柔軟に行えることから、シスおよびトランスクレジッド酸 5a,5b を利用する合成法を計画した(Scheme 1)。



シスーグリシッド酸 5a は、Sharpless 不斉ジヒドロキシリ化反応により得られる光学活性ジオール 9 から合成した。11 の水酸基への 5a 導入反応は円滑に進行し、引き続く 12a の立体選択的なアジド化を経たドセタキセル 2 の簡便合成法を確立した(Scheme 2)。

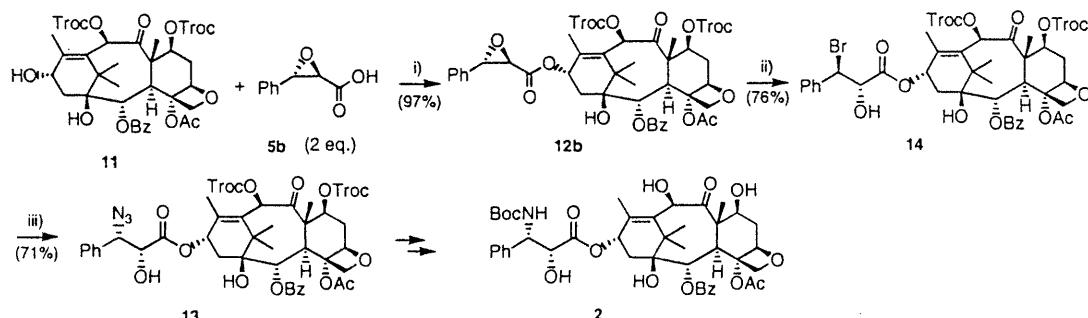


Reagents and conditions : (i) AD-mix- β , t -BuOH, H_2O , r.t., 18 h; (ii) $TsCl$, Et_3N , CH_2Cl_2 , 0 $^{\circ}C$, 38 h; (iii) K_2CO_3 , H_2O , DMF , r.t., 24 h; (iv) $LiOH$, $MeOH$, H_2O , r.t., 1 h; (v) 5a (1.5 eq.), DCC , $DMAP$, toluene, 80 $^{\circ}C$, 1 h; (vi) Na_3N , HCO_2Me , $MeOH$, H_2O , 50 $^{\circ}C$, 40 h; (vii) PPh_3 , Boc_2O , $KHCO_3$, CH_2Cl_2 , H_2O , r.t., 19 h; (viii) $AcOH$, $MeOH$, 60 $^{\circ}C$, 40 min.

Scheme 2

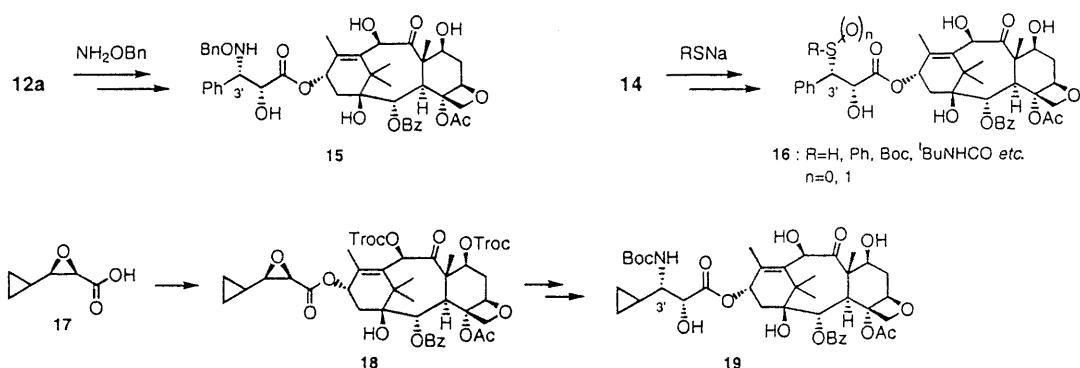
一方、既法を利用することによりシスーグリシッド酸と比べて短工程で合成されるトランスクレジッド酸 5b を用いた 11 のアシル化反応は、室温 10 分間で終結した(Scheme 3)。12b の $TiBr_4$ によるプロム化は、HMPA を添加することにより立体制御が達成され、14 を選択的に得ることが出来た。14 を NaN_3 で処理すると、13 の他に、12b を経由した 13 の 3'位ジアステレオマーが副生成物として生じた。条件検討の結果、反応系に 15-crown-5 を添加し、低温にて反応を行うことにより 13 を立体選択的に得ることに成功した。

ここに、シスおよびトランスクレジッド酸を利用するタキソイドの新規合成法を確立した。これらは、従来法と比較して、2',3'-アミノアルコール部分の保護、脱保護を必要としない効率的な合成法である。



Reagents and conditions : (i) DCC , $DMAP$, toluene, r.t., 10 min; (ii) $TiBr_4$, $HMPA$, CH_2Cl_2 , 0 $^{\circ}C$, 18 h; (iii) NaN_3 , 15-crown-5, DMF , 0 $^{\circ}C$, 24 h.

次に筆者は、これらの新規合成法を利用した新規 3'位置換タキソイドの合成を検討した。まず、3'位アミド結合部分の変換として、合成中間体 **12a**, **14** を用いて、既法からは合成困難と考えられる新規タキソイド **15**, **16** を合成した。さらに、3'位のフェニル基修飾の一環として、シクロプロピル基に置換した誘導体 **19** の合成も行った(Scheme 4)。



次に、合成した上記タキソイドの B-16 メラノーマ細胞移植マウスに対する延命効果を検討した。その結果、3'-デスフェニル-3'-シクロプロピルドセタキセル **19** (T-1248)に、ドセタキセル **2** を上回る *in vivo* 抗腫瘍活性を見出した。さらに、T-1248 は、各種ヒト腫瘍細胞 9 株中 8 株に対して **2** を上回る増殖抑制効果 (*in vitro* 抗腫瘍活性) を示し、特に大腸癌細胞(WiDr, Colon 320)に対して、**2** の 16-23 倍の活性を示した。

3. 新規水溶性タキソイド T-3782 の創製と合成

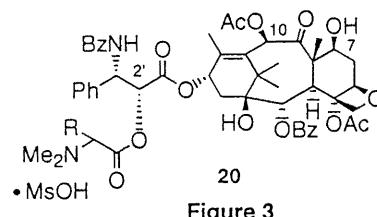
次に筆者は、タキソイド誘導体共通の問題点である難水溶性を解決するために、T-1248 の水溶性プロドラッグ化を検討した。

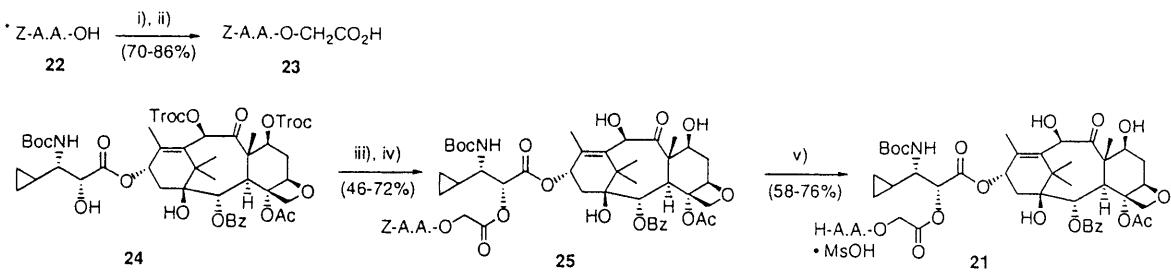
これまでに、幾つかの水溶性誘導体および水溶性プロドラッグの研究が、2'位および 7 位水酸基の修飾を中心に報告されている。しかしながら、水溶性、*in vivo* 抗腫瘍活性、安定性の 3 要素を満たす報告例はほとんど知られていない。

そこで筆者は、Mathew らが報告した 2'位水酸基にアミノ酸誘導体を直接エステル結合で導入した水溶性プロドラッグ **20** に着目した(Fig. 3)。これらには親化合物 **1** とほぼ同程度の *in vivo* 抗腫瘍活性が報告されている。ところが、**20** は化学的に不安定なため、それ以上の研究は報告されていない。筆者は、**20** が化学的に不安定な原因を、アミノ基による隣接基関与と 2'位酸素原子近傍にかさ高い修飾基を導入したことによる立体反発によるものと推定した。そして、2'位水酸基をグリコール酸ユニットをスペーサーとして介したアミノ酸で修飾し、立体障害の軽減をはかった水溶性プロドラッグ **21** をデザインした。

アミノ酸誘導体 **23** と T-1248 の 7,10 位保護体 **24** から合成されたプロドラッグ **21** は、いずれも優れた水溶性を示し、かつ期待通りに生理食塩水中安定であった(Scheme 5)。

さらに、プロドラッグ **21** の抗腫瘍活性を、B-16 メラノーマ細胞移植マウスに対する延命効果を指標にして検討した(Table 1)。**21a**, **21d**, **21e** は、対照薬のドセタキセル、さらには親化合物である T-1248 よりも優れた抗腫瘍活性を示した。これらの化合物は、投与量が T-1248 より高いにも関わらず、体重減少が少ないことから、プロドラッグ化により毒性を軽減できたものと思われる。





Reagents and conditions: (i) $\text{BrCH}_2\text{CO}_2t\text{-Bu}$, K_2CO_3 , acetone, reflux; (ii) HCO_2H , r.t.; (iii) 23, DCC, DMAP, THF, r.t.; (iv) Zn , AcOH , MeOH , 60°C ; (v) H_2 , Pd-C , MsOH , THF, r.t..

compound No.	21a	21b	21c	21d	21e
H-A.A.-O	$\text{H}_2\text{NOC}-\text{CH}_2-\text{COO}$	$\text{H}_2\text{NOC}-\text{CH}(\text{NH}_2)-\text{CH}_2-\text{COO}$	$\text{MeHNOC}-\text{CH}_2-\text{COO}$	$\text{ROOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}$	$\text{EtOOOC}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COO}$
solubility in saline (mg/mL)	5	50	10	1** (R = H)	10

Scheme 5

*H-A.A.-OH = amino acid. ** R = Bn in 22d, 23d, 25d.

最も優れた抗腫瘍活性を示した 21a に関して塩の検討を行い、結晶化に成功したトシリ酸塩 T-3782 に関して詳細な検討を行った。T-3782 の特徴を以下に示す。1) 各種ヒト腫瘍細胞を移植したヌードマウスに対して、ドセタキセルと同等以上の抗腫瘍活性を示した。2) イヌに対する毒性は、ドセタキセルより軽度であった。3) 良好な水溶性 (1 mg/mL) を有し、化学的に安定であり、ヒトエステラーゼにより活性本体である T-1248 に効率よく変換される。現在、T-3782 は、臨床開発候補品として選出され、臨床開発に向け鋭意検討が継続されている。

さらに、筆者は T-3782 の工業化を目指した合成法を検討した。結果、2 位を修飾したオキサゾリンカルボン酸塩 26 を用いて 13 位側鎖を導入することにより、2'位水溶性側鎖の導入を効率化出来、短工程の T-3782 合成法を確立することに成功した (Scheme 6)。

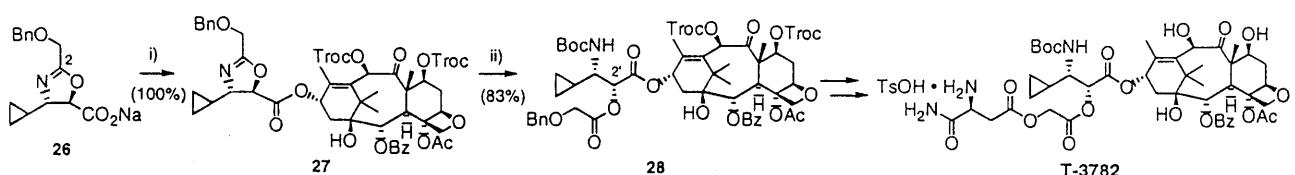
Table 1: Antitumor activity of T-1248 and 21 against B16 melanoma.*

compd.	optimal dose of drug (mg/kg/day)	ILS** (%)	body weight change on day 10 (%)
21a	12.5	227	-3.2
21b	6.3	127 ***	-11.1
21c	6.3	185	-0.5
21d	25	212 ***	3.3
21e	12.5	213	-2.9
T-1248	6.3	187	-7.5
docetaxel (2)	20	149	-13.0

* B16 melanoma cells were inoculated subcutaneously in 5 mice, and each compound was administered *iv* on days 1 to 5.

** Increase in life span of mice when treated at optimal dose.
ILS(%) = (mean survival time of treated group (except cured mouse **)/ that of control group - 1) × 100.

*** One mouse survived on day 90, and the tumor was undetectable.



Reagents and conditions: (i) 11, 2,6-dichlorobenzoyl chloride, Et_3N , DMAP, THF, r.t., 1.5 h; (ii) Boc_2O , TsOH , H_2O , $t\text{-BuOH}$, r.t., 2 d.

Scheme 6

以上筆者は、グリシド酸を利用した新規 13 位側鎖導入法を開発し、それを基盤としたタキソイドの 13 位側鎖部分の構造活性相関研究を行い、T-1248 を選出した。さらに、その水溶性プロドラッグ化に成功し、臨床開発候補品 T-3782 を選出し、その工業化を目指した合成法を確立した。