

論文の内容の要旨

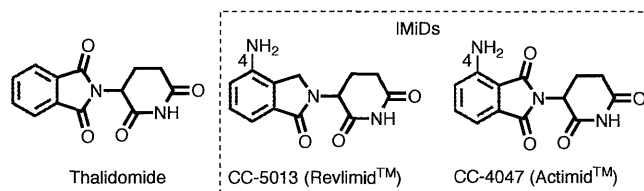
論文題目 医薬化学を志向した新規銅錯体試薬の開発と thalidomide 誘導体への応用

氏 名 白井 伸也

【第 1 章 研究背景】

Multi-template 創薬手法とは、ヒト生体内に約 5~7 万種類ものタンパク質が存在する一方で、それらの化学的性質を無視した 3 次元的立体形状 (フォールド構造) の数は約 1000 種類と数に限りがあることに着目した概念である。この考えに基づけば、適切な母核を有する小分子化合物 (multi-template) に対して、適切な誘導化を行えば、様々な生理活性を有する化合物群が共通の母核から創製できるはずである。Multi-template の分子骨格に着目する際、芳香環は重要かつ欠かせない部分構造であるが、芳香環上への位置および化学選択的な置換基導入は未だ合成化学上の課題である。

近年、thalidomide の 4 位にアミノ基が導入された IMiDs が注目されている¹。IMiDs は thalidomide の副作用を軽減し、求める薬理作用を増強した化合物であり、中でも CC-5013 (RevlimidTM) は強力な TNF- α



(tumor necrosis factor- α) 産生阻害作用を有し、多発性骨髄腫治療薬の承認を受けている (Figure 1)。当研究室における過去の thalidomide の構造展開研究においても 4 位への置換基導入がその活性や選択性に大きく影響することが示されている。

そこで芳香環の新たな修飾反応を開発し、multi-template 手法に基づき 4 位に置換基を導入した thalidomide 誘導体を創製し、質の高い chemical library を作成すべく研究を行うこととした。これにより multi-template 手法に反応化学を取り入れた新たな創薬手法を提案することとした。

【第 2 章 Directed *ortho* cupration (DoC) 反応の開発²⁾】

Directed *ortho* metalation (DoM) 反応は、芳香環上に位置選択的に置換基を導入できる数少ない反応のひとつであり、配位性官能基 directed *ortho* metalation group (DMG) の *ortho* 位水素が強塩基により脱プロトン化され、金属が直接芳香環と結合を形成する反応である (Figure 2)。これまで、Uchiyama らにより alkyl lithium、lithium amido に代わる Al、Zn を中心金属とする典型金属アート型塩基試薬が開発され、cyano 基、amide 基など、DMG として利用できる官能基の幅が広げられてきた³⁾。しかしながら、これらの錯体で調製した中間体は求電子剤との反応性、多様

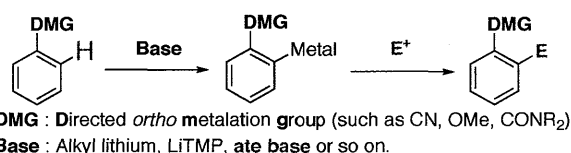


Figure 2. Directed *ortho* metalation (DoM).

Table 1. Screening for cuprates.

Entry	Cuprate	Yield (%)	Entry	Cuprate	Yield (%)
1	MeCu(CN)Li 1a	0	7	ⁿ BuCu(TMP)(CN)Li ₂ 1g	83
2	TMPCu(CN)Li 1b	0	8	^t BuCu(TMP)(CN)Li ₂ 1h	70
3	(TMP) ₂ Cu(I)Li ₂ 1c	67	9	PhCu(TMP)(CN)Li ₂ 1i	93
4	MeCu(TMP)(I)Li ₂ 1d	51	10	ThCu(TMP)(CN)Li ₂ 1j	58
5	(TMP) ₂ Cu(CN)Li ₂ 1e	74	11	TMSMCu(CN)(TMP)Li ₂ 1k	54
6	MeCu(TMP)(CN)Li ₂ 1f	91	12	(HMDS)Cu(CN)(TMP)LiNa 1l	78

性に乏しいという問題点が存在した。今回筆者は、新たな芳香族金属アート錯体の創製と芳香環への置換基導入反応のさらなる多様化を目指し、新しい金属アート塩基の開発に取り組んだ。

有機銅錯体は求電子剤との高い反応性に加え、銅特有の反応性が数多く報告されている。また、銅を中心金属とする酵素 tyrosinase⁴⁾ や laccase の機能にも着目し、遷移金属である Cu(I) を中心金属とする遷移金属アート型塩基試薬の開発に着手した。容易に酸化できることが知られる Cu(I) アート錯体は、典型金属アート錯体では困難な置換基の導入戦略が期待できる。

嵩高いアミンを有する銅アート錯体を設計し、directed *ortho* cupration (DoC) 反応を種々検討した (Table 1)。その結果、Gilman 型のアート錯体 (**1a, b**) に比べ、CuCN より調製した Lipshutz (higher order) 型の錯体 (**1c-l**) に高い活性が見られた。銅アート錯体では、配位子として Me, ⁿBu, ^tBu, Ph 基等の様々な alkyl 配位子が選択可能であり、錯体に構造多様 (柔軟) 性を持たせることができた。

銅アート錯体 **1f** をモデル錯体として、本反応の適応範囲について調べた (Table 2)。CN 基、OMe 基等の様々な官能基を有する芳香族化合物 (**2b-e**)、芳香環上に I、Br が存在する化合物 (**2f-h**)、ヘテロ環化合物 (**2i-k**) に対して位置および化学選択的に DoC 反応が進行することを明らかにした。

さらに、合成した芳香族銅アート錯体は aryl anion 等価体として反応することが明らかとなった (Figure 3)。他のメタル化試薬を用いた際、触媒添加が必要であった S_N2 反応や acyl 化反応に関し

ても、中間体 **3e** は、新たに触媒添加を必要とすることなく、高収率かつ位置選択的に Me 化、allyl 化、benzoyl 化、silyl 化反応が進行した。

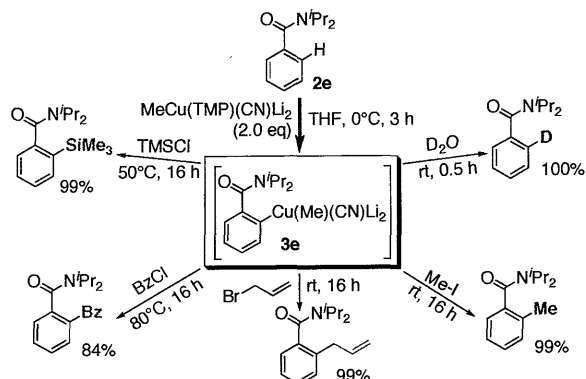


Figure 3. Electrophilic trapping.

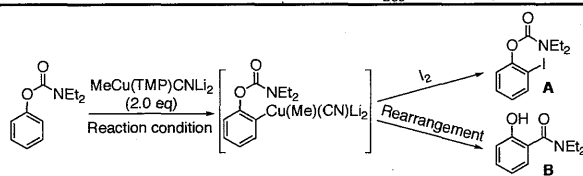
また配位性官能基が *O*-carbamate 基である場合において、芳香族銅アート錯体中間体の安定性を調べた (Figure 4)。低温下で銅アート錯体を反応させた際、求核置換体が選択的に得られたことに対し (Entry 1)、比較的温和な条件にて加熱したところ選択的に anionic Fries 転移体が得られた (Entries 5–7)。温度を制御する事により、転移を制御できる結果が得られた。

【第 3 章 理論的解析】

開発した DoC 反応を ligand-coupling 等の酸化反応に応用すべく、錯体の構造ならびに反応機構に関する解析を行った (Figure 5)。B3LYP 法により (TMP)₂Cu(CN)Li₂ **1e** の構造は Lipshutz 型である事が示唆され、この結果は X 線結晶構造解析の結果とも一致した。反応機構に関しては、錯体のどの部分が脱プロトン化に関与するのか、また、生成物である芳香族銅アート錯体中間体はその後配位子変換反応が進行するかわりなかに、主に三つの反応経路が推定される。DFT 計算を行った結果、銅アート錯体の Li 原子が芳香

Table 2. DoC for various kinds of substrates.

Entry	Substrate	Product	Yield (%)	Entry	Substrate	Product	Yield (%)
1			95 (0°C, 3 h)	6			100 (-78°C, 3 h)
2			90 (0°C, 3 h)	7			82 (-78°C, 3 h)
3			90 (0°C, 3 h)	8			90 (0°C, 3 h)
4			92 (0°C, 3 h)	9			95 (-78°C, 3 h)
5			96 (-78°C, 3 h)	10			88 (-40°C, 3 h)



Entry	Reaction condition	Product A	Product B
1	-40°C, 3h	quant.	N.D. ^a
2	0°C, 3h	56%	42%
3	0°C, 16h	19%	79%
4	rt, 3h	16%	82%
5	rt, 16h	N.D. ^a	78%
6	30°C, 3h	N.D. ^a	87%
7	50°C, 3h	N.D. ^a	73%

^a N.D. means not detected

Figure 4. Anionic Fries rearrangement.

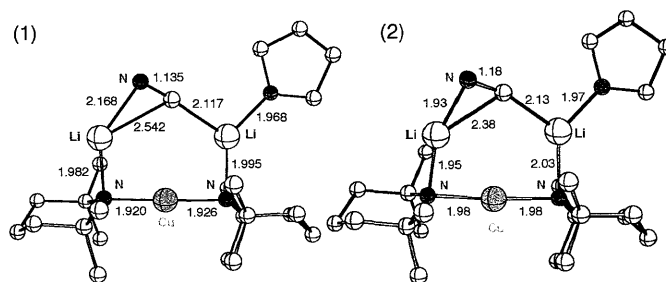


Figure 5. The Structure of **1e**. (1) : X ray structure ($R_{int} = 0.0328$). (2) : Calculated structure. DFT (B3LYP/6-31+G* & SVP for Cu).

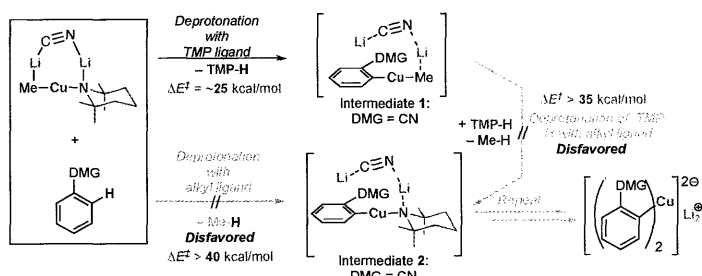


Figure 6. Plausible reaction mechanism.

環上の官能基に配位した後、TMP部分が芳香環上官能基に隣接する水素を選択的に引き抜き、芳香族銅アート錯体化する機構が推定された。また、その後の配位子変換反応は進行しない速度論的な反応経路を有する事が示唆された (Figure 6)。

【第4章 酸化反応】

Cu(I) 中間体 **3e** を種々の条件で酸化した (Figure 4)。 **1f**, **1g**, **1i** を用いて調製した中間体を温和な酸化剤として知られる PhNO_2 を用いて酸化を行うと、選択的に ligand-coupling 反応が進行し、 sp^3 , sp^2 炭素が導入された **4e_{Me}**, **4e_{Bu}**, **4e_{Ph}** が得られた。またアルキルユニット (銅-炭素結合) を持たない、**1e** を用いて同様に酸化したところ、選択的に homo-coupling 体 **5e** が得られた。さらに錯体 **1i** を用い、 $\text{C}_6\text{Cl}_4\text{O}_2$ にて酸化したところ、 NH_2 基が導入された **6e** が得られた。さらに、芳香環化学において、困難な課題として知られる位置・化学選択的な OH 化反応を試みた (Figure 5)。アルキルユニットを持たない銅アート錯体 **1e** を用い、分子状酸素、 $t\text{BuOOLi}$ を用いた酸化を行うことで OH 基導入を試みた。その結果、分子状酸素を用いた際、多くの二量体が生成した事に対し、 $t\text{BuOOLi}$ で酸化したところ、二量体の生成は抑えられ、OMe 基を有する化合物、benzonitrile に対して効率よくヒドロキシル化反応が進行した。

【第5章 thalidomide 誘導体の創製・活性評価】

当研究室でこれまでに創製された thalidomide の glutarimide 骨格を芳香環に変換した化合物 **PP33** に対し、開発した DoC 反応を用いて、4 位に置換基を導入した化合物群を創製した (Figure 6)。これらの化合物群に対し、抗がん活性に深く関与しているとされる、APN (aminopeptidase N) ならびに PSA (puromycin-sensitive aminopeptidase) に対する阻害活性評価、ヒト白血病細胞 HL-60 に対する細胞分化誘導試験、さらに $\text{TNF-}\alpha$ 産生調節活性を調べた。

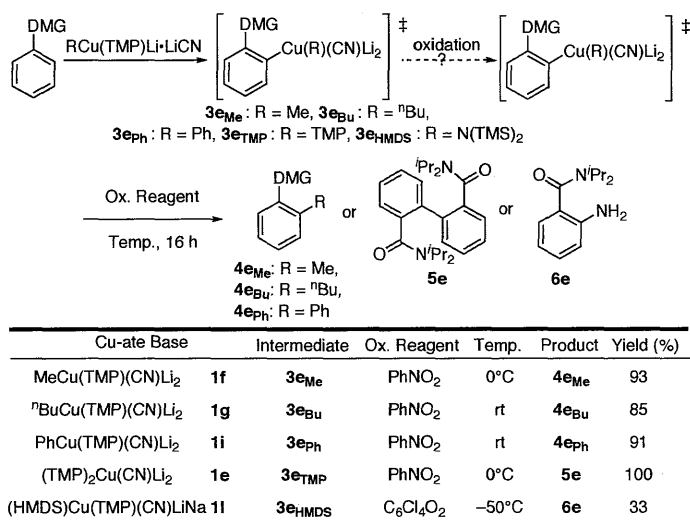
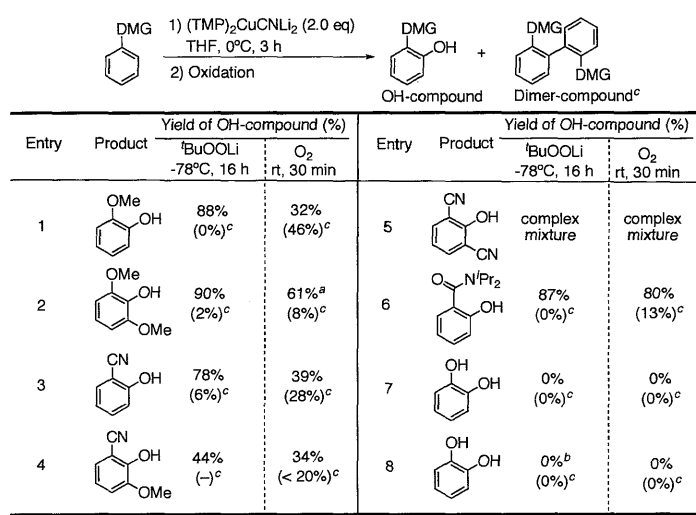


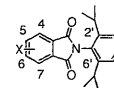
Figure 4. Oxidation of the aromatic Cu-ate complexes.



^a 4.0 eq of cuprate were used. ^b 4.0 eq of cuprate and $t\text{BuOOLi}$ were used. ^c The yield of dimer-compound.

Figure 5. Oxidation of the aromatic Cu-ate complexes.

Table 3. APN/PSA inhibitory activities.



Compound	X	PSA inhibition IC ₅₀ μM	APN inhibition IC ₅₀ μM
PP33	H	> 100	> 100
4HPP33	4-OH	> 100	> 100
4APP33	4-NH ₂	5.3	= 100
4CNPP33	4-CN	> 100	> 100
4AMP33	4-CONH ₂	> 100	> 100
4MePP33	4-Me	51.7	> 100
4ALPP33	4-Allyl	> 100	75.7
4IPP33	4-I	> 100	91.9
4,7-DHPP33	4,7-diOH	30.0	> 100
4,7-DCNPP33	4,7-diCN	> 100	> 100
4,7-DMePP33	4,7-diMe	> 100	> 100
4,7-DIPP33	4,7-diI	> 100	4.3
5OMe4HPP33	4-OH, 5-OMe	> 100	> 100
5OMe4,7DHPP33	4,7-diOH -5-OMe	> 100	> 100
bestatin		0.8	1.2

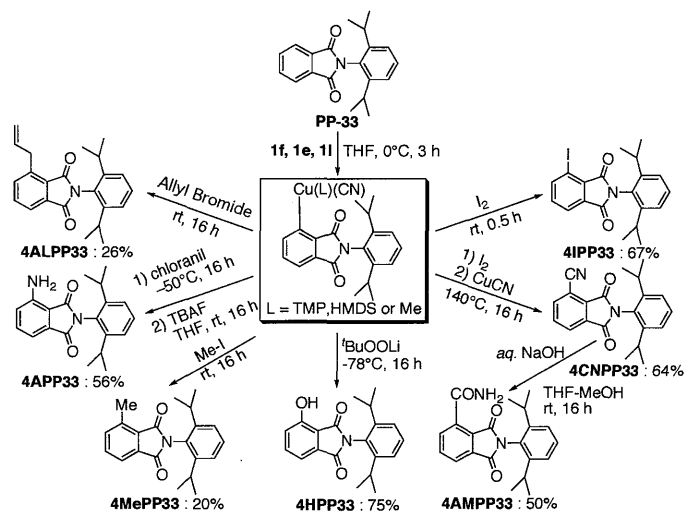


Figure 6. Synthesis of 4-substituted derivatives of PP33.

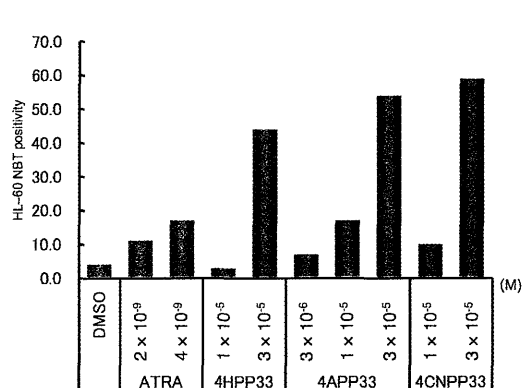


Figure 7. HL-60 cell differentiation activity.

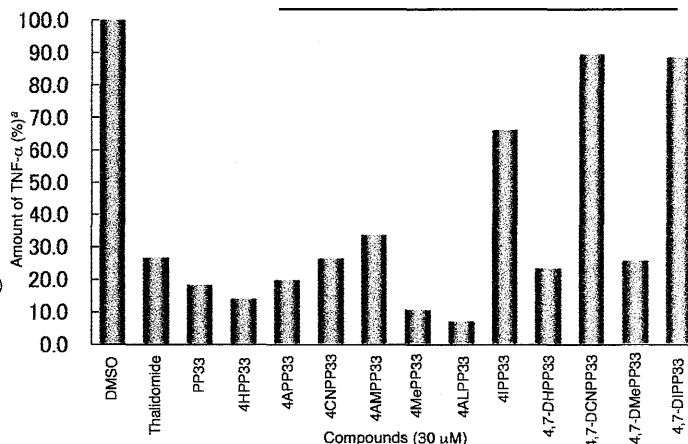


Figure 8. TNF-α production regulation activity..

4位へのNH₂基、I基の導入が、APNならびにPSAに対する阻害活性に大きな影響を与え、置換基導入により酵素選択性を引き出せることを示した (Table 3)。また、単独でHL-60細胞の分化を誘導する4-hydroxy, amino, cyano誘導体を見出したことに加え (Figure 7)、ヒト白血病細胞THP-1のTPA刺激によるTNF-α産生を強力に阻害する化合物の創製にも成功した (Figure 8)。

【第6章 総括】

本研究において、医薬化学を志向しDoC反応を開発するとともに、同反応をthalidomideをmulti-templateとした誘導体合成に応用することで、新たにAPN阻害剤、PSA阻害剤、HL-60細胞分化誘導剤、TNF-α産生調節剤を見出した。本研究において、multi-template手法に反応化学を取り入れたことにより新たな創薬手法を提案ならびに例示することができたと考えている。

【参考文献】

- Bartlett, J. B.; Dredge, K.; Dalgleish, A. G. *Nat. Rev. Cancer*, **2004**, *4*, 314-322.
- Usui, S.; Hashimoto, Y.; Morey, J. V.; Wheatley, A. E.; Uchiyama, M.; *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, 15102-15103.
- (1) Mulvey, R. E.; Mongin, F.; Uchiyama, M.; Kondo, Y. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2007**, *46*, 802-24. (2) Uchiyama, M.; Matsumoto, Y.; Usui, S.; Hashimoto, Y.; Morokuma, K. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 926-929.
- (1) Itoh, S.; Kumei, H.; Taki, M.; Nagatomo, S.; Kitagawa, T.; Fukuzumi, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 6708-6709. (2) Naka, H.; Kondo, Y.; Usui, S.; Hashimoto, Y.; Uchiyama, M. *Adv. Synth. Catal.* **2007**, *349*, 595-600.