

審査の結果の要旨

氏名 白井 伸也

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。今後、膨大な化合物のバリエーションがある中で、生物にとって有用な chemical library を選択的に作成していくためには multi-template 創薬手法が重要な手段となる。

白井伸也は multi-template 構造として thalidomide、IMiDs に着目し、(1) 最適な芳香環修飾反応 directed *ortho* cupration (DoC) 反応の開発ならびに酸化反応への応用、(2) 銅錯体の錯体構造、反応機構解析、(3) DoC 反応による thalidomide 誘導体

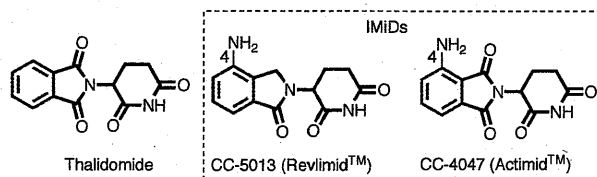
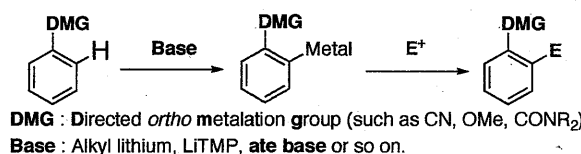


Figure 1. Structures of thalidomide and IMiDs.

の創製、活性評価を行った。以上より、multi-template 創薬手法に反応化学を取り入れた事により、これまではなかった創薬手法を提案した。本研究による創薬手法は従来の手法と相補するものであると考えられる。

DoC (Directed *ortho* cupration) 反応の開発、応用

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)。

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

これまでに開発された典型金属アート塩基錯体を用いて調製した中間体は求電子剤との反応性、多様性に乏しいという問題点が存在した。これに対し、ハロゲン-銅交換反応により調製された芳香族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た。白井は銅を中心金属とする酵素 tyrosinase, 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。

白井は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 型の錯体 (1c-l) に高い活性が見られた認められた。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) 性が存在する事を明らかとした。

また、本 DoC 反応の適応範囲、ならびに各種求電子剤との反応性について調べている (Figure 3)。CN 基、OMe 基等の様々な官能基を有する芳香族化合物、芳香環上に I, Br が存在する化合物、ヘテロ環化合物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とした。

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 |

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を示している。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。

また、臼井は 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 $PhNO_2$ を用いて酸化することで、選択的に ligand-coupling 反応が進行させ、 sp^3 , sp^2 炭素が導入された **4e_{Me}**, **4e_{Bu}**, **4e_{Ph}** を得ている。また炭素ユニット (銅-炭素結合) を持たない、**1e** を用いて同様に酸化することで、選択的に homo-coupling 体 **5e** を得ている。さらに中間体 **3e_{TMP}** を $tBuOOLi$ で酸化することで、芳香環化学・医薬化学において重要と考えられる OH 化反応の開発を行っている。また、錯体 **1i** を用い、 $C_6Cl_4O_2$ にて酸化することで NH_2 基導入反応を報告している。

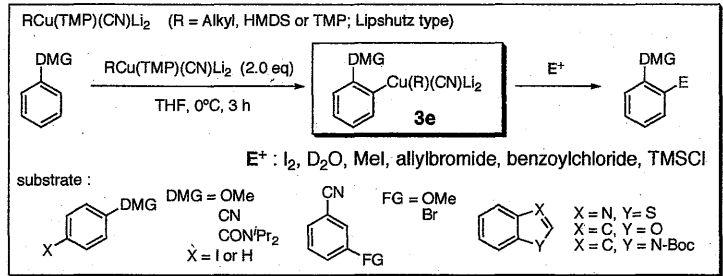
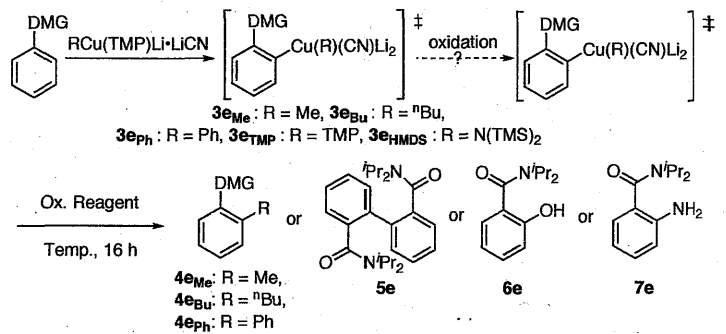


Figure 3. various kinds of substrates and electrophilic trapping..



| Cu-ate Base | Intermediate | Ox. Reagent | Temp. | Product | Yield (%) | |
|-------------------------|--------------|--------------------------|--------------|-------------|------------------------|-----|
| $MeCu(TMP)(CN)Li_2$ | 1f | 3e_{Me} | $PhNO_2$ | $0^\circ C$ | 4e_{Me} | 93 |
| $tBuCu(TMP)(CN)Li_2$ | 1g | 3e_{Bu} | $PhNO_2$ | rt | 4e_{Bu} | 85 |
| $PhCu(TMP)(CN)Li_2$ | 1i | 3e_{Ph} | $PhNO_2$ | rt | 4e_{Ph} | 91 |
| $(TMP)_2Cu(CN)Li_2$ | 1e | 3e_{TMP} | $PhNO_2$ | $0^\circ C$ | 5e | 100 |
| $(TMP)_2Cu(CN)Li_2$ | 1e | 3e_{TMP} | $tBuOOLi$ | $0^\circ C$ | 6e | 88 |
| $(HMDS)Cu(TMP)(CN)LiNa$ | 1i | 3e_{HMDS} | $C_6Cl_4O_2$ | rt | 7e | 33 |

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

錯体構造と反応機構解析

次に臼井は新たに開発した銅アート錯体の構造、DoC 反応機構に関して、密度汎関数法を用い、錯体の構造と反応機構の解析を行った (Figure 5)。B3LYP 法により $(TMP)_2Cu(CN)Li_2$ **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、銅アート錯体の Li 原子が芳香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。

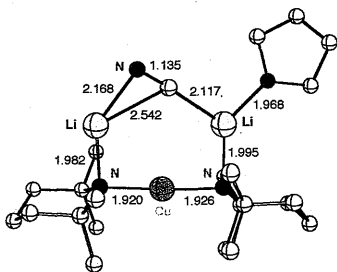


Figure 5. X ray structure of **1e**. ($R_{int} = 0.0328$).

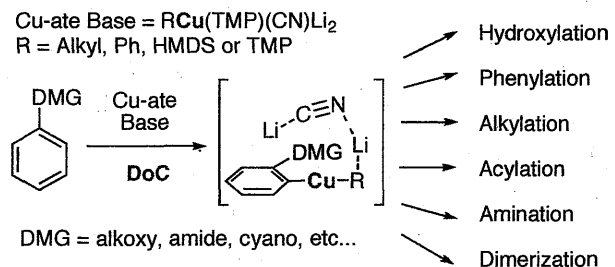


Figure 6. Development of DoC.

以上より、臼井伸也は新たな芳香環修飾反応 DoC を開発したとともに、遷移金属である銅特有の反応性を生かす事により、新たに C-C bond, C-N bond, C-O bond の形成に成功した (Figure 6)。

DoC 反応を用いた thalidomide 誘導体の創製・活性評価

次に白井は所属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 7)。

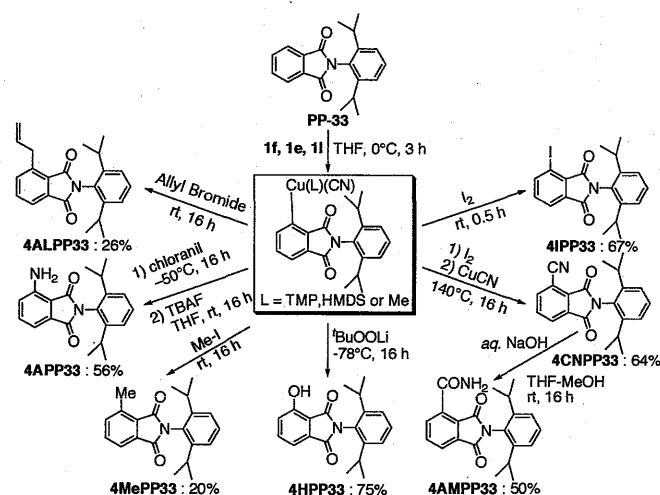
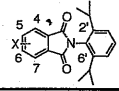


Figure 7. Synthesis of 4-substituted derivatives of **PP33**.

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 TNF- α 産生調節活性を調べた。

その結果、4 位への NH₂ 基、I 基の導入という僅かな構造修飾が、APN ならびに PSA に対する阻害活性に大きな影響を与え、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 8)、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。

Table 3. APN/PSA inhibitory activities.



| Compound | X | PSA inhibition IC ₅₀ μ M | APN inhibition IC ₅₀ μ M |
|---------------|---------------------|---|---|
| PP33 | H | > 100 | > 100 |
| 4HPP33 | 4-OH | > 100 | > 100 |
| 4APP33 | 4-NH ₂ | 5.3 | = 100 |
| 4CNPP33 | 4-CN | > 100 | > 100 |
| 4AMPP33 | 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 |

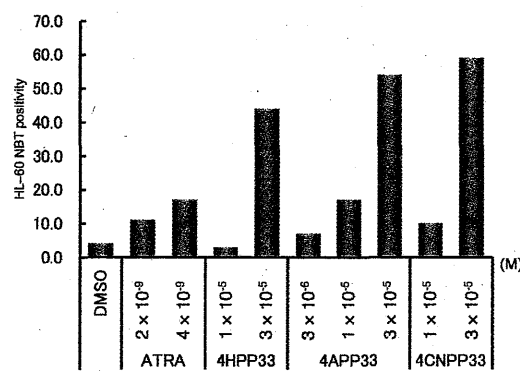


Figure 8. HL-60 cell differentiation activity.

以上、白井伸也は thalidomide を multi-template に選定し、その構造修飾に最適な DoC 反応を開発し、適用した。創製した化合物群は、抗がん活性に深く関与する種々の生理活性を示した。本研究により、multi-template 手法に反応化学を取り入れた新たな創薬手法が chemical library ならびにリード化合物創製に有効である事が示された。これらの業績は医薬化学ならびに芳香環修飾反応に対し大きく貢献するものであり、博士(薬学)の学位を授与するに値すると判断した。