

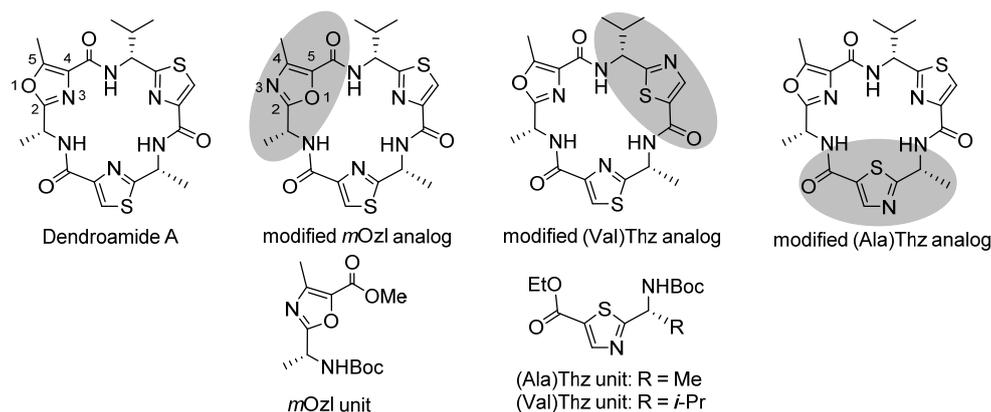
氏名	まがた たくじ 曲田 拓司
学位の種類	博士(薬科学)
学位記番号	乙博薬科第1号
学位授与の日付	令和3年10月22日
学位授与の要件	学位規則第4条第2項該当
学位論文題目	Dendroamide A 及びその類縁体の合成に関する研究
論文審査委員	(主査) 教授 土井 光暢 (副査) 教授 浦田 秀仁 (副査) 教授 宇佐美 吉英

論文内容の要旨

がん細胞が抗がん剤に対して多剤耐性 (MDR) を獲得する重要なファクターは、がん細胞内に取り込まれた抗がん剤を細胞外に排泄するポンプの役割を果たす P-糖タンパク質 (P-gp) の過剰発現である。

シアノバクテリア *Stigonemadendroideum fermy* から発見された環状ペプチドの一つである dendroamide A は、この輸送タンパク P-gp の働きを阻害し、多剤耐性がん細胞に有効な細胞毒性を示すことが報告された。特徴的な構造を持つこの化合物は、研究者の興味をそそり、これまでに複数のグループによりその全合成研究が行われた。Dendroamide A は、6 つのアミノ酸から 3 種の複素環を形成しているが、アミノ酸を生合成原料とするため、その置換様式は複素環の 2 位に N 末端、4 位に C 末端が置換した 2,4-置換型であり、複素環の全ての窒素原子が大環状構造の内側に配向した構造に限定されている。複素環部分のヘテロ原子の位置を入れ替えた 2,5-置換位置異性体は、天然には存在せず、これまで P-gp 阻害活性に対する位置異性体の影響を報告された例はない。

本研究では、dendroamide A の複素環位置異性体の構造活性相関及び、物性の変化に関する新たな知見を得ることを目的に、dendroamide A の構成ユニットの一つを天然型の 2,4-置換体から非天然型の 2,5-置換体に変換した下記に示す 3 種の dendroamide A 類縁体の合成について取り組んだ。初めに、その構成ユニットとなる非天然型 2,5-置換アミノ酸ユニットの新規合成法の開発を行い、その後、dendroamide



A 類縁体の合成及び、その P-gp 阻害活性について評価を行った。

非天然型 2,5-置換オキサゾールユニット (*mOzl* ユニット) の合成は、Liu らの α -アシルオキシエナミンの分子内縮合による合成が報告されているが、部分的なラセミ化が進行することから、申請者はハロ環化反応とそれに続くオキサゾール環の構築を行う One-pot エナミド環化反応による *mOzl* ユニット合成法の開発を行った。*N*-ブロモスクシンイミド (NBS) を用いたエナミンのブロモ化とそれに続くオキサゾール環形成反応を介して、高い光学純度で非天然型 2,5-置換オキサゾールアミノ酸ユニットの合成に成功した。オキサゾール環とアミノ基に隣接する炭素上の水素の酸性度が高いため、塩基を用いた加熱条件ではラセミ化を起こしやすいが、本反応は反応条件が非常に穏やかであるため、反応中にラセミ化はほとんど起こらないことがわかった。

次に、非天然型 2,5-二置換チアゾールユニットの合成を検討した。これまでに非天然型チアゾールユニットは、チオアミドとクロロジカルボニル体を反応させる Hantzsch 法や Xie らのチオアミドとフェニルイソキサゾロンを用いた光分解やプロモヒドリンとの反応が報告されているが、いずれの方法においてもラセミ化が進行し、光学純度が低下している。そこで、キラル *tert*-ブチルスルフィニルケチミンのジアステレオ選択的還元を鍵反応とする合成を計画した。アラニン側鎖を持つ基質について、(*R*)-*tert*-ブタンスルフィンアミドを用いて *tert*-ブチルスルフィニルケチミンを合成後、ジアステレオ選択的還元の検討を行った。還元剤として水素化トリ(*sec*-ブチル)ホウ素

リチウム (L-Selectride®) を用いたところ、ジアステレオ選択的還元成功した。その後、スルフィニル基の脱保護、Boc 化することで、(Ala)Thz ユニットの高い光学純度で得ることができた。

前述のチアゾールユニットの合成は多段階を要したため、キラルスルフィニルイミンへのジアステレオ選択的な 2-リチオチアゾールの導入を鍵反応とする別ルートの開発を行った。鍵となるキラルスルフィニルイミンへの 2-リチオチアゾールの付加反応では、三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (BF₃·OEt₂) を添加することで、高ジアステレオ選択的に反応が進行することを見出した。その後、スルフィナミドを Boc 基に変換した後に、パラジウム触媒下、ギ酸フェニルを一酸化炭素源とするフェノキシカルボニル化を行い、光学活性な非天然型 2,5-二置換チアゾールユニットを短工程で合成することに成功した。

最後に、合成した非天然型ユニットを用いて dendroamide A の各構成ユニットを非天然型 2,5-置換アミノ酸ユニットに置換したアナログの合成を検討した。環化位置は立体障害を軽減するために、かさ高いイソプロピル側鎖近傍での環化を回避することを計画した。縮合剤のスクリーニングの結果、ブromo-トリス-ピロリジノ-ホスホニウムヘキサフルオロホスファート (PyBrop®) は鎖状三量体の合成に適しており、ジフェニルリン酸アジド (DPPA) は環化に適していることを見出した。非天然型オキサゾールユニットの導入は環化に影響を与えなかったが、非天然型チアゾール環の導入は環化を妨げることが明らかとなった。しかし、縮合条件と環化位置を最適化することにより、収率を向上させることができ、dendroamide A アナログ 3 種の合成に成功した。得られた dendroamide A アナログの P-gp 阻害活性を評価したところ、3 種の類縁体は P-gp 阻害活性を示すものの、dendroamide A と比較すると活性が低下した。これらの結果から、各アゾール環の配向が P-gp 阻害活性に重要であることを明らかにした。今回開発した非天然型ユニット合成法は他のアゾール環をもつ類縁体合成にも利用できると思われるため、新たな生理活性ペプチドの創製に寄与できると期待される。

論文審査の結果の要旨

天然に存在する環状ペプチド化合物は、抗がん活性を示すことが多く知られており、その選択的合成研究は世界中で幅広く行われている。中でも海洋由来の環状ペプチド天然物は、構成する部分構造としてチアゾール環やオキサゾール環を含んでいることがしばしば見られるため、これらの部分構造の高エナンチオ選択的合成法の確立は有機合成化学的ならびに創薬化学的に極めて重要である。1996年、Smithらはシアノバクテリア *Stigonemadendroideum feryi* の代謝物として dendroamide A と名付けた環状ペプチドを発見した。本天然物は、6つのアミノ酸から成り、2つの2,4-二置換チアゾールユニットと1つの2,4-二置換オキサゾールユニットを含むという構造的なユニークさに加えて、P-糖タンパク質(P-gp)を阻害することで多剤耐性がん細胞に対して有効な活性を示す大変興味深い化合物である。

本学位論文は、曲田拓司氏が dendroamide A の構造活性相関に関する知見を得るために、天然物とは異なる2,5-二置換オキサゾールまたは2,5-二置換チアゾール部分構造によって構成される非天然型 dendroamide A 類縁体の合成を計画し、当該部分構造の高エナンチオ選択的合成法の確立（第一章～第三章）ならびに目的の非天然型環状ペプチドの合成とP-gp阻害活性評価の結果（第四章）をまとめたものである。

曲田氏は、まず、2,5-置換オキサゾールユニット (*mOzl* ユニット) の合成に着手し、既知法の欠点であった部分的なラセミ化を克服するために穏やかな条件下で合成法を模索し、ハロ環化反応とそれに続くオキサゾール環構築による One-pot エナミド環化反応による *mOzl* ユニットにたどり着いた。エナミドのハロゲン化には *N*-ブロモスクシンイミド (NBS) を 50 °C で用い、その後、室温で 1,8-ジアザビシクロ[5.4.0]ウンデセン(DBU)を作用させることで、ラセミ化をほとんど起こすことなく目的の *mOzl* ユニットの合成できることを示した（第一章）。

続いて第二章では、キラル 2,5-二置換チアゾールユニットの合成について述べられている。やはり既知法で問題となるラセミ化を防ぐために、キラル *tert*-ブチルスルフィニルケチミンのジアステレオ選択的還元を鍵反応とする合成を実施した。アラニン側鎖を持つ基質と (*R*)-*tert*-ブタンサルフィンアミドから *tert*-ブチルスルフィニルケチミンを合成後、ジアステレオ選択的還元を検討し、水素化トリ(*sec*-ブチル)ホウ素リチウム (L-Selectride®) を用いることで高ジアステレオ選択的還元が実現できることを見出し、その後、スルフィニル基の脱保護、Boc 化によって高光学純度のキラル 2,5-

二置換チアゾールユニットの合成に成功した。還元されるキラル *tert*-ブチルスルフィニルケチミンの安定コンフォメーションは計算化学的な解釈がなされ、続く L-Selectride®による選択性発現機構に関する推論が詳細に述べられている。

第四章では、前章のジアステレオ選択的還元によるチアゾールユニット合成が 10 段階を要するという欠点を克服するために、さらに簡便な合成法の開発を目指して、キラルスルフィニルイミンに対する 2-リチオチアゾールのジアステレオ選択的付加反応についての検討が詳細に記されている。種々検討の末、本反応は三フッ化ホウ素ジエチルエーテル錯体 (BF₃·OEt₂) 添加により高ジアステレオ選択性 (97% de) が実現できることを見出した。ここでも計算化学の結果に基づく立体選択性発現に関する妥当な考察が述べられている。その後、スルフィナミドの Boc 化、続くパラジウム触媒によるフェノキシカルボニル化を行うことで、目的のキラル 2,5-二置換チアゾールユニットの合成工程数を 10 から 3 に削減することに成功した。

第四章では、前章までの検討より得られた各種ユニットを用いる非天然型 dendroamide A 類縁体の合成について述べられており、各種ユニットに対する脱水縮合剤のスクリーニングにより、プロモ-トリス-ピロリジノ-ホスホニウムヘキサフルオロホスファート (PyBrop®) が鎖状三量体の合成に適しており、ジフェニルリン酸アジド (DPP A) が鎖状三量体から最終目的物である環状三量体への反応に最適であることを見出した。これらを用いて 3 種の非天然型 dendroamide A 類縁体および dendroamide A の合成を完了し、最後に合成で得られた化合物の P-gp 阻害活性を評価した。その結果、3 種の類縁体は、平面的なコンフォメーションで存在していると考えられている dendroamide A に比べて弱い P-gp 阻害活性を示すことが判明し、このことは、各構成ユニットの置換様式やそれにより変化する分子のコンフォメーションが活性に重大な影響を与えていることを示唆した。

今回合成された非天然型 dendroamide A 類縁体の P-gp 阻害活性は、残念ながら天然物よりは弱かったが、逆に天然物の絶妙な配列による分子構造が活性に与える影響が甚大であることを示すことができた。加えて、はじめにも述べたように本研究で確立された高エナンチオ選択的チアゾールおよびオキサゾール部分構造の合成法は、他の類縁体合成や新たなペプチド合成分野への応用が期待されるものであり、学術的意義は極めて高い。特に第一章と第三章の内容は、有機化学の権威ある学術誌 *Tetrahedron Letters* に掲載されたことからその価値を支持している。

以上により、上記の論文は、博士(薬科学)論文として適当と判断する。