

# 有機合成を基盤とするエピゲノム創薬への挑戦

東北大学大学院薬学研究科医薬製造化学分野

植田 浩史

## 1. 目的

近年、ヒトゲノム解読が終了し、エピジェネティクスと呼ばれる後成的な遺伝子発現機構とがんや生活習慣病、精神病などの疾患との関わりが研究により解明されてきた。エピジェネティクス研究の発展に伴い、DNAの塩基配列の変化を伴わず、DNAメチル化やヒストン修飾に関与する酵素を標的分子としたエピゲノム創薬と呼ばれる新たな創薬アプローチが誕生した。エピゲノム創薬は、特にがん領域において、現行の化学療法で見られるような重篤な副作用のない新たな抗がん剤の開発につながるのではないかと期待されている。このような背景のもと、本研究では、独自に開発した新規方法論ならびに確立したピロロインドールアルカロイドの全合成を基盤とし、低分子化合物を用いたエピゲノム制御による新規抗がん剤の開発を行うとともに、エピジェネティクス研究における基礎研究の進展を目的とする。

## 2. 方法

天然には、ピロロインドール骨格とジケトピペラジン骨格が縮環した特異な構造を有するインドールアルカロイドが多数存在する<sup>1)</sup> (Table 1)。本化合物群は、ホモ二量体やヘテロ二量体などアミノ酸に由来する多様な類縁体が存在し、強力かつ広範な生物活性を有する。なかでも、ホモ二量体型構造を有するケトシンは、天然物では珍しいヒストンメチル基転位酵素SU(VAR)の阻害活性(IC<sub>50</sub> = 0.6 μM)を有することが、Imhofらによって報告されている<sup>2)</sup>。また、近年ケトシンより高い酸化段階を有するメリナシディンIVがZhuらにより単離・構造決定され<sup>3)</sup>、本化合物は現行のがん化学療法に用いられるpaclitaxelと同程度の強力な抗がん活性(IC<sub>50</sub> = 5 nM)を有することから、抗癌剤のリード化合物として期待されている。本研究では、ホモ二量体型構造を有するピロロインドールアルカロイドに焦点を当て、本化合物群の有する潜在的な薬理活性の解明に向け、新規方法論を基盤とするヒストンメチル基転位酵素の阻害活性について構造活性相関研究を展開する。

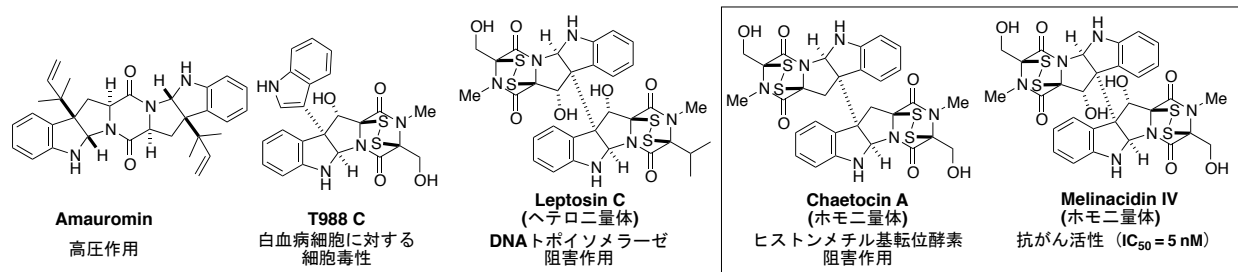
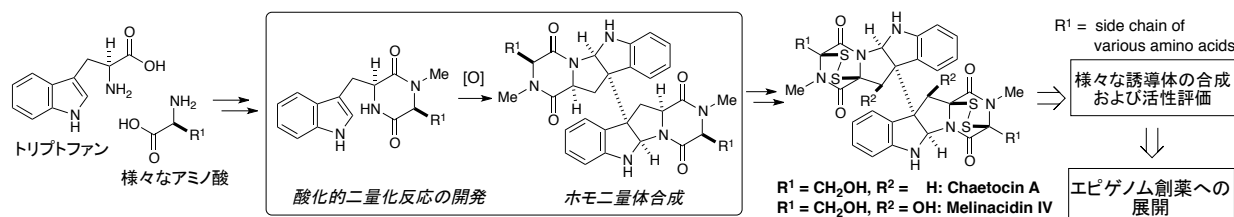


Table 1

二量体型ピロロインドールアルカロイドの有用性から、現在までにインドール二量化反応の開発が盛んに行われてきた。二量体構造を有する化合物の効率的な化学合成を行なうには、合成の収束性、すなわち合成終盤での二量化が重要である。しかし、従来法の多くが簡易なインドール誘導体のみに限られるなど基質一般性に乏しい。さらに、高価または毒性のある金属を化学量論量必要とする。実際に、多くの天然物にみられるジケトピペラジン環を有した基質でのインドールの二量化反応は、現在までにわずか二例の報告に留まっている。本化合物群の合成に有効な手法としては、袖岡らによるケトシンの全合成<sup>4)</sup>にも用いられた Movasagghi らの手法<sup>5)</sup>が挙げられるが、本法はコバルトを化学量論量用いる点、酸化的環化の後に還元的カップリングを経るため合成の効率性の点からも改善の余地が残されている。そこで本研究課題では、実用性の高いインドールの効率的二量化反応の開発を目指すにあたって、生合成に着目した。天然に存在する二量体型ピロロインドールアルカロイドは、インドールの一電子酸化、続く二量化、環化を経た連続反応により生合成されることが古くから提唱されている<sup>6)</sup>。また近年、渡部らはジケトピペラジンを有するインドールに対し、チトクロム P450 を含んだタンパク質 DtpC を作用することで、天然物である ditryptophenaline が得られることを報告している<sup>7)</sup>。このように生体内では、ヘム鉄を有する酸化酵素チトクロム P450 により、水中で分子状酸素を受容体とし、多様な活性官能基存在下、基質の酸化が巧みに行われ、単純な骨格を有する基質から複雑な構造を有する化合物が合成されている。このような生合成に着想を得て、入手性に優れ、かつ安全性の高い鉄触媒を開発することができれば、実用性の高い酸化的二量化反応の開発が可能ではないかと考えた。

以上の背景から、申請者は本化合物群の共通するコア骨格の迅速かつ汎用性の高い新規構築法の確立と、本化合物群の潜在的な生物活性の掘り起こしによるエピゲノム創薬への展開を研究テーマとして立

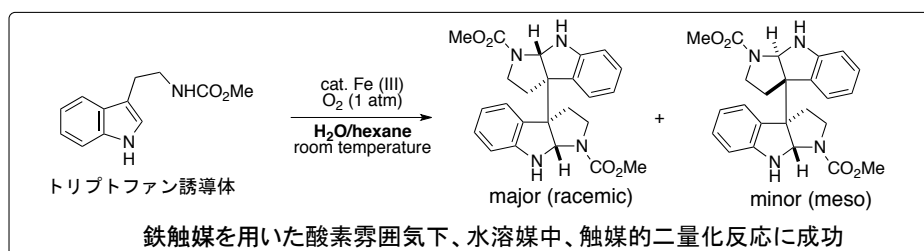
案し、本研究に着手した (Scheme 1)。



Scheme 1

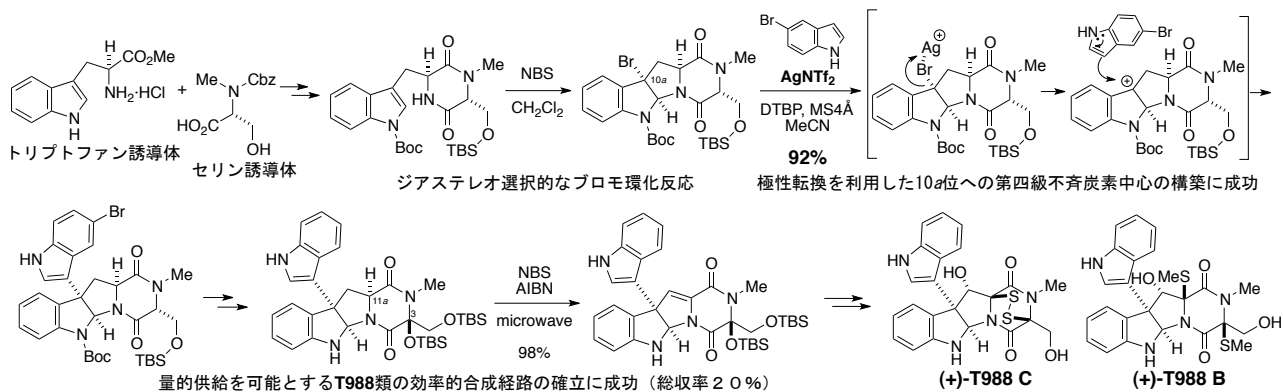
### 3. 結果

インドールの新規二量化反応の開発にあたり、まずモデル基質として、トリプトファン誘導体を用いた酸化的二量化反応を検討した (Scheme 2)。酸素雰囲気下、水溶液中、様々な鉄触媒を添加した結果、多くの触媒では反応は全く進行しなかったが、P450からヒントを得た鉄触媒を用いた条件でのみ目的的二量化体を得ることに成功した。この際、メソ体の生成はごく少量であり、高立体選択的に二量化反応が進行することがわかった。また、その後の詳細な検討の際、興味深いことに、有機溶媒を単独で用いた条件では目的的二量体生成物は得られず、本反応において水溶液が必須であることがわかった。



Scheme 2

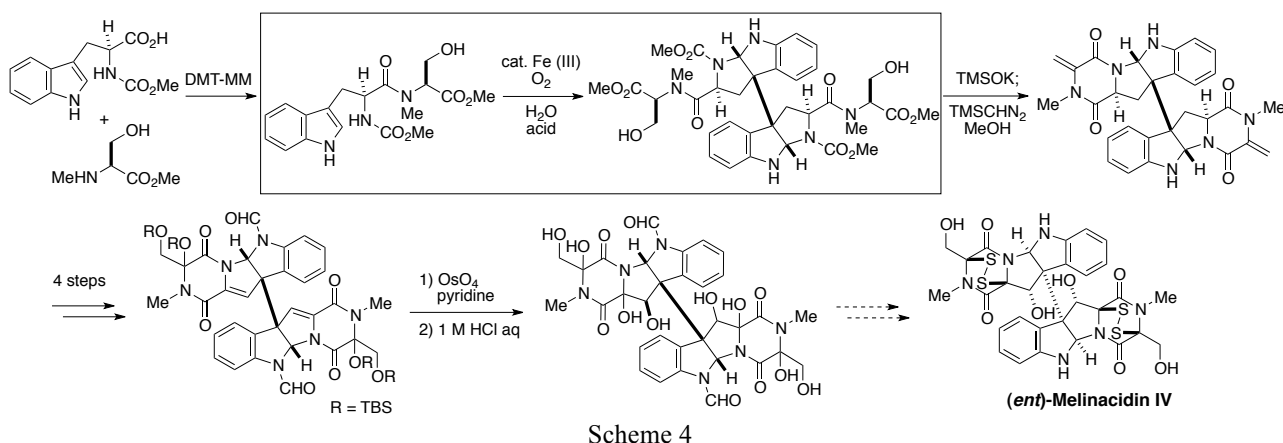
インドールの酸化的二量化反応を確立したため、続いてケトシンやメリナシディンIVの全合成に向けた検討を行った。これら標的化合物の構造上の特徴として、連続する第四級炭素で連結した二量体構造のみならず、その高い酸化段階も挙げられる。そこで、まず、メリナシディンIVと同様の酸化段階を有するT988類の効率的合成法の開発に取り組んだ (Scheme 3)。まず、トリプトファン誘導体とセリン誘導体との縮合反応により、ジケトピペラジン環を構築した。続く、プロモ環化反応では、用いる溶媒の極性がジアステレオ選択性の発現に重要であることがわかり、ジクロロメタンを用いることで、高ジアステレオ選択的に反応が進行した。続く10a位へのインドールの導入は、AgNTf<sub>2</sub>を銀塩として用いた求核置換反応により効率的に達成した。11a位のC-Hプロモ化反応を経た酸化の際、当初は収率の面で問題があったが、3位の立体化学の制御やマイクロ波の使用により、ほぼ定量的に酸化体を得ることに成功した。このようにして、T988類の全合成を達成した<sup>8)</sup>。確立した本合成経路は、市販のアミノ酸からT988Cまで総収率20%と、既存の合成法(総収率:4%)と比較しても格段に効率的であるといえる。



Scheme 3

以上、量的供給を可能とするジケトピペラジン環の酸化修飾法を開発したので、本合成法を二量体化合物に適用した (Scheme 4)。まず、トリプトファン誘導体とセリン誘導体との縮合反応により、酸化的二量化反応の基質を合成した。続く二量化反応では、ブレンステッド酸の添加を必要とするものの、目的的二量体を生じた。この際、無保護の第一級ヒドロキシ基を有する基質においても、インドールの酸化が優先的に進行するなど、本酸化反応が高い化学選択性を有することがわかった。続いて、窒素の保護基の除去、ジケトピペラジン骨格の形成、E1Cb脱離を経たエキソオレフィンの形成を一挙に行い、市販のアミノ酸の縮合反応からわずか3工程でメリナシディンIVの全炭素骨格の構築に成功した。次に、炭素骨格への酸素や硫黄原子の導入を検討した。オレフィンのジヒドロキシル化や炭素-

水素結合のブロモ化を経たオレフィンの導入を含む、4工程の構造変換によりエナミドを得た。その後、オレフィンのオスミウム酸化と加水分解によりオクタオールを合成した。現在、立体化学を含め詳細な構造決定を行っている。今後、硫黄原子の導入により、ケトミンやメリナシディンIVの合成経路を確立する。さらに、さまざまな誘導体を合成し、ヒストンメチル基転位酵素の阻害活性について構造活性相関研究を展開する予定である。



#### 4. 考察

以上、申請者は、生合成を模倣した二量体型インドールアルカロイドの骨格構築法を新たに開発した。本反応は、グラム合成へ適用可能であり、高い化学選択性を有する。さらに本酸化反応は、レアメタルや化学量論量の酸化剤を用いる従来法を普遍金属である鉄に代替しただけでなく、酸素を再酸化剤とするトリプトファン誘導体初の触媒的二量化反応であり、高い環境調和性も有している。このような実用性に優れた酸化反応の確立により、本化合物群の化学合成が加速し、今後エピゲノム創薬を含め、ますます本研究領域が発展するものと期待している。

#### 5. 参考文献

- 1) Ruiz-Sanchis, P.; Savina, S. A.; Albericio, F.; Álvarez, M. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1388.
- 2) Greiner, D.; Bonaldi, T.; Eskeland, R.; Roemer, E.; Imhof, A. *Nat. Chem. Biol.* **2005**, *1*, 143.
- 3) Li, L.; Li, D.; Luan, Y.; Gu, Q.; Zhu, T. *J. Nat. Prod.* **2012**, *75*, 920.
- 4) Iwasa, E.; Hamashima, Y.; Fujishiro, S.; Higuchi, E.; Ito, A.; Yoshida, M.; Sodeoka, K. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4078.
- 5) Movassaghi, M.; Schmidt, M. A. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2007**, *46*, 3725.
- 6) Robinson, R. and Teuder, H. J. *Chem. Ind. (London)* **1954**, 783.
- 7) Sarywatari, T.; Yagishita, F.; Mino, T.; Noguchi, H.; Hotta, K.; Watanabe, K. *Chem. Bio. Chem.* **2014**, *15*, 656.
- 8) Sato, S.; Hirayama, A.; Ueda, H.; Tokuyama, H. *Asian J. Org. Chem.* DOI: 10.1002/ajoc.201600474.