

学 位 論 文 題 名

発癌プロモーター、ホルボールエステル類の合成研究

学位論文内容の要旨

生体を構成する細胞は協調してその個体の生命活動を維持している。この細胞情報伝達により、細胞の分化、増殖、代謝調節などが通常は正常に保たれているものの、ひとたびその機構が乱れると細胞の癌化などの疾病が引き起こされる。細胞情報伝達機構の一端を担い近年注目を集めている物質にセリン／スレオニン蛋白質リン酸化酵素のプロテインキナーゼCがある。プロテインキナーゼCは、そのアミノ酸配列の違いから現在までに10種類以上のサブタイプの存在が確認されており、細胞情報伝達機構に於ける作用の多様性が明らかにされつつあるものの、それらの研究に利用されているプロテインキナーゼCの活性化剤及び阻害剤の特異性の低さが生化学的研究を行うに当たっての障害の一つとなっている。そこでもしその特異的な活性化剤等作用の分離が可能な物質が得られるならば、生体機能解明のためのバイオリジカルツールとして非常に有効である。

一方プロテインキナーゼCをレセプターとしこれを直接的に活性化する物質として、強力な発癌プロモーター活性を有するPhorbol Myristate Acetate (PMA) が知られている。近年プロテインキナーゼCに対するPMAの結合部位に関して多くの研究がなされている。本来レセプターの構造から結合部位を探索する事が最も効率的であるが、プロテインキナーゼCの三次元構造が未だに解明されていないため、PMAと同様の作用機構で活性化するTeleocidinやAplysiatoxinなどの他のPMAタイプの発癌プロモーターとのコンピュータを用いた重ね合わせに基くものが多く提出されている。その結果PMAの3位、4位、9位、20位の酸素官能基群と12位の疎水性基の関与が示唆されている。それと平行して天然物並びにその誘導体を用いた生物活性試験による構造活性相関が精力的に行われているものの、それらの研究は限られた天然物に依存しているため、得られ

る情報も自ずと限られ未だ最終的な結論には至っていない。そこで著者は、プロテインキナーゼCに対するPMAの結合部位の探索及び発癌機構解明に有用と考えられる新規PMAアゴニスト及びアンタゴニストの創製を目指し本研究に着手した。

PMAの基本骨格であるPhorbolは分子量が364と比較的低分子ながら五員環(A環)、七員環(B環)、六員環(C環)、三員環(D環)から成る四環性化合物で、その骨格上の八ヶ所に不斉中心を有している。更に4位、9位、13位の三ヶ所に三級水酸基が存在する高度に酸素官能基化された特異な構造を有する化合物である。又Phorbolは、酸、アルカリ、光及び種々の酸化剤に対して非常に不安定である事が知られている。従ってホルボールエステル類の合成には苛酷な反応条件を用いる事は困難であり、このリジッドな骨格である五、七、六、三員環をいかなる順序でしかも全ての立体配置を制御しつつ構築するかが問題となる。

先ず著者は、プロテインキナーゼCに対するPMAの結合部位を探索すべく、活性発現に直接寄与しないと考えられPMAの11位のメチル基及び13位のアセトキシル基を除去した化合物を標的化合物として設定した。このものはPMA自体よりも効率良い合成が可能と考えられ、PMAと同等以上の活性を有するならば、PMAのadvanced analogと成り得る。標的化合物を合成するに当たり、単に骨格構築を行うばかりでなく後にプロテインキナーゼCとの結合部位を解明するため様々な官能基を有する誘導体合成が容易となる様、活性発現に関与すると考えられる官能基の集中するA環及びB環部を合成の後半に行う事にした。そこでD環部に相当するジメチルシクロプロパン環を有する安価で光学活性な(+)-3-careneを出発原料とし、三員環によるコンホメーションの固定を利用して順次C環、B環、A環を構築する事を計画した。

一方ホルボールエステル類の合成研究は、いくつかのグループによって試みられているが、そのいずれもがラセミ体での検討であり、光学活性体での合成を行う事は有機合成化学的見地のみならず、生物活性を検討する立場からも意義深いものである。

【1】C、B環部の立体特異的構築

C、B環部は分子内ニトリルオキシド-オレフィン環化付加反応を利用して立体特異的に構築した。即ち、(+)-3-careneより誘導した(1S, 3R)-2,2-dimethyl-3-(3-nitropropyl)-1-vinylcyclopropaneをトリエチルア

ミン存在下イソシアン酸メチルで処理したところ、隣接する三員環により遷移状態のコンホメーションが固定されるため、高収率でかつ立体特異的にC環の形成された(1S, 8R, 9R)-10, 10-dimethyl-3-oxa-4-aza-tricyclo[7.1.0.0^{4,5}]dec-4-eneを得る事が出来た。次に常法に従い(1R, 2S, 3S, 6R)-7, 7-dimethyl-3-hydroxy-2-(4-nitro-1-Z-butenyl)-3-vinyl-bicyclo[4.1.0]heptaneへ変換した後、同様の条件下反応に付す事で通常ではその形成が困難とされる七員環を有する(8S, 9R, 10R, 13R, 14R)-15, 15-dimethyl-9-hydroxy-2-oxa-3-aza-tetracyclo[12.1.0.0^{4,10}.0^{8,9}]pentadec-3, 6-dieneを収率良く得る事に成功した。更にイソキサゾリン環の開裂に関し種々条件を検討した結果、反応中に生成するイミンの加水分解を促進するため大過剰の硼酸存在下、Raney-Ni (W-2) を触媒として用いる事により、B環上の二重結合を還元する事無く(1S, 6S, 7R, 10R, 11R)-12, 12-dimethyl-7-hydroxy-1-hydroxymethyl-2-oxo-tricyclo[9.1.0.0^{6,7}]undec-4-eneへと高収率で導き得る事が判った。

【2】A環構築の検討

次に分子内McMurryカップリング反応並びに分子内アルドール反応によるA環構築を検討した。しかしながら分子内McMurryカップリング反応によって得られた四環性化合物(4S, 8S, 9R, 10S, 13R, 14R)-4-hydroxy-3-oxo-2, 15, 15-trimethyl-9-trimethylsilyloxy-tetracyclo[12.1.0.0^{4,10}.0^{8,9}]pentadec-1-eneは、X線結晶解析により4- α -phorbol骨格を有している事が判明した。一方分子内アルドール反応の基質(1S, 2R, 6S, 7R, 10R, 11R)-12, 12-dimethyl-1-formyl-2-hydroxy-2-(1-oxopropyl)-7-trimethylsilyl-tricyclo[9.1.0.0^{6,7}]undecaneは、塩化セリウムに対し2モル当量の求核剤を用いたセリウムアルコキシド中間体を経る擬似分子内反応により、アシルアニオン等価体を立体特異的に導入する事で、収率良く得る事が出来た。そこで本化合物を用いA環構築を検討したところ、天然物と同じ4- β -phorbol骨格を有する四環性化合物を得る事に成功し、ホルボール骨格の立体特異的合成を完了した。

【3】12位への β 配置の水酸基の導入法の開発

次にPMAの12位に相当する位置への水酸基の導入を検討した。C環部が舟形に固定されたカラン骨格の12位への求核付加反応は、三員環上のメチル基との立体障害のため α 方向から進行し、更にこの位置に脱離性

のある官能基が存在する場合三員環の開裂が予想され、その導入が困難と考えられた。しかしながら (1R, 2R, 6R) -2-^tbutylcarbonyloxymethyl-7,7-dimethyl-3-oxo-bicyclo[4.1.0]hept-4-ene へのエポキシ化続く開裂により、 α 配置の水酸基へと変換する事が出来た。更に数工程を経る事で水酸基の立体配置を反転させた (1R, 2R, 4S, 5R, 6R) -2-^tbutyldimethylsilyloxy-7,7-dimethyl-4-hydroxy-5-hydroxymethyl-4-vinyl-bicyclo[4.1.0]heptane を得る事が出来、ここに12位への β 配置の水酸基の導入に成功した。

以上の様に著者は、細胞増殖調節機構に対するPMAの関与に興味を持ちPMAのadvanced analogの合成研究を行った。その結果二度の分子内ニトリルオキシド環化付加反応を鍵工程としてC、B環を立体特異的に構築し、更に分子内アルドール反応によりA環を形成する事で四環性化合物を得る方法論の確立に成功した。又PMAの12位に相当する位置への β 配置の水酸基導入法の確立に成功した。以上の結果は、PMAの基本骨格の光学活性体での合成の最初の例であり、かつ標的化合物に存在する七ヶ所の不斉中心を全て制御し得た事で、種々のadvanced analog合成に有効な興味ある知見と考えている。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 米 光 幸

副 査 助教授 森 美和子

副 査 助教授 濱 田 辰 夫

副 査 教 授 柴 崎 正 勝

学 位 論 文 題 名

発癌プロモーター、ホルボールエステル類の合成研究

生体を構成する細胞は協調してその個体の生命活動を維持している。この細胞情報伝達により、細胞の分化、増殖、代謝調節などが通常は正常に保たれているものの、ひとたびその機構が乱れると細胞の癌化などの疾病が引き起こされる。細胞情報伝達機構の一端を担い近年注目を集めている物質にセリン／スレオニン蛋白質磷酸化酵素のプロテインキナーゼCがある。プロテインキナーゼCは、そのアミノ酸配列の違いから現在までに10種類以上のサブタイプの存在が確認されており、細胞情報伝達機構に於ける作用の多様性が明らかにされつつあるものの、それらの研究に利用されているプロテインキナーゼCの活性化剤及び阻害剤の特異性の低さが生化学的研究を行うに当たっての障害の一つとなっている。そこでもしその特異的な活性化剤等作用の分離が可能な物質が得られるならば、生体機能解明のためのバイオリジカルツールとして非常に有効である。

一方プロテインキナーゼCをレセプターとしこれを直接的に活性化する物質として、強力な発癌プロモーター活性を有するPhorbol Myristate Acetate (PMA) が知られている。近年プロテインキナーゼCに対するPMAの結合部位に関して多くの研究がなされている。本来レセプターの構造から結合部位を探索する事が最も効率的であるが、プロテインキナーゼCの三次元構造が未だに解明されていないため、PMAと同様の作用機構で活性化するTeleocidinやAplysiatoxinなどの他のPMAタイプの発癌プ

ロモーターとのコンピュータを用いた重ね合わせに基くものが多く提出されている。その結果PMAの3位、4位、9位、20位の酸素官能基群と12位の疎水性基の関与が示唆されている。それと平行して天然物並びにその誘導体を用いた生物活性試験による構造活性相関が精力的に行われているものの、それらの研究は限られた天然物に依存しているため、得られる情報も自ずと限られ未だ最終的な結論には至っていない。そこで著者は、プロテインキナーゼCに対するPMAの結合部位の探索及び発癌機構解明に有用と考えられる新規PMAアゴニスト及びアンタゴニストの創製を目指し本研究に着手した。

PMAの基本骨格であるPhorbolは分子量が364と比較的低分子ながら五員環(A環)、七員環(B環)、六員環(C環)、三員環(D環)から成る四環性化合物で、その骨格上の八ヶ所に不斉中心を有している。更に4位、9位、13位の三ヶ所に三級水酸基が存在する高度に酸素官能基化された特異な構造を有する化合物である。又Phorbolは、酸、アルカリ、光及び種々の酸化剤に対して非常に不安定である事が知られている。従ってホルボールエステル類の合成には苛酷な反応条件を用いる事は困難であり、このリジッドな骨格である五、七、六、三員環をいかなる順序でしかも全ての立体配置を制御しつつ構築するかが問題となる。

先ず著者は、プロテインキナーゼCに対するPMAの結合部位を探索すべく、活性発現に直接寄与しないと考えられPMAの11位のメチル基及び13位のアセトキシ基を除去した化合物を標的化合物として設定した。このものはPMA自体よりも効率良い合成が可能と考えられ、PMAと同等以上の活性を有するならば、PMAのadvanced analogと成り得る。標的化合物を合成するに当たり、単に骨格構築を行うばかりでなく後にプロテインキナーゼCとの結合部位を解明するため様々な官能基を有する誘導体合成が容易となる様、活性発現に関与すると考えられる官能基の集中するA環及びB環部を合成の後半に行う事にした。そこでD環部に相当するジメチルシクロプロパン環を有する安価で光学活性な(+)-3-careneを出発原料とし、三員環によるコンホメーションの固定を利用して順次

C環、B環、A環を構築する事を計画した。

一方ホルボールエステル類の合成研究は、いくつかのグループによって試みられているが、そのいずれもがラセミ体での検討であり、光学活性体での合成を行う事は有機合成化学的見地のみならず、生物活性を検討する立場からも意義深いものである。

【1】C、B環部の立体特異的構築

C、B環部は分子内ニトリルオキシド-オレフィン環化付加反応を利用して立体特異的に構築した。即ち、(+)-3-careneより誘導した(1S, 3R)-2,2-dimethyl-3-(3-nitropropyl)-1-vinylcyclopropaneをトリエチルアミン存在下イソシアン酸メチルで処理したところ、隣接する三員環により遷移状態のコンホメーションが固定されるため、高収率でかつ立体特異的にC環の形成された(1S, 8R, 9R)-10,10-dimethyl-3-oxa-4-aza-tricyclo[7.1.0.0^{1,5}]dec-4-eneを得る事が出来た。次に常法に従い(1R, 2S, 3S, 6R)-7,7-dimethyl-3-hydroxy-2-(4-nitro-1-Z-butenyl)-3-vinyl-bicyclo[4.1.0]heptaneへ変換した後、同様の条件下反応に付す事で通常ではその形成が困難とされる七員環を有する(8S, 9R, 10R, 13R, 14R)-15,15-dimethyl-9-hydroxy-2-oxa-3-aza-tetracyclo[12.1.0.0^{4,10}.0^{8,9}]pentadec-3,6-dieneを収率良く得る事に成功した。更にイソキサゾリン環の開裂に関し種々条件を検討した結果、反応中に生成するイミンの加水分解を促進するため大過剰の硼酸存在下、Raney-Ni(W-2)を触媒として用いる事により、B環上の二重結合を還元する事無く(1S, 6S, 7R, 10R, 11R)-12,12-dimethyl-7-hydroxy-1-hydroxymethyl-2-oxo-tricyclo[9.1.0.0^{6,7}]undec-4-eneへと高収率で導き得る事が判った。

【2】A環構築の検討

次に分子内McMurryカップリング反応並びに分子内アルドール反応によるA環構築を検討した。しかしながら分子内McMurryカップリング反応によって得られた四環性化合物(4S, 8S, 9R, 10S, 13R, 14R)-4-hydroxy-3-oxo-2,15,15-trimethyl-9-trimethylsilyloxy-tetracyclo[12.1.0.0^{4,10}.0^{8,9}]pentadec-1-eneは、X線結晶解析により4- α -phorbol骨格を有している事が判明した。一方分子内アルドール反応の基質(1S, 2R, 6S,

7R,10R,11R)-12,12-dimethyl-1-formyl-2-hydroxy-2-(1-oxopropyl)-7-trimethylsilyl-tricyclo[9.1.0.0^{6,7}]undecaneは、塩化セリウムに対し2モル当量の求核剤を用いたセリウムアルコキシド中間体を経る擬似分子内反応により、アシルアニオン等価体を立体特異的に導入する事で、収率良く得る事が出来た。そこで本化合物を用いA環構築を検討したところ、天然物と同じ4- β -phorbol骨格を有する四環性化合物を得る事に成功し、ホルボール骨格の立体特異的合成を完了した。

【3】12位への β 配置の水酸基の導入法の開発

次にPMAの12位に相当する位置への水酸基の導入を検討した。C環部が舟形に固定されたカラン骨格の12位への求核付加反応は、三員環上のメチル基との立体障害のため α 方向から進行し、更にこの位置に脱離性のある官能基が存在する場合三員環の開裂が予想され、その導入が困難と考えられた。しかしながら(1R,2R,6R)-2-^tbutylcarbonyloxymethyl-7,7-dimethyl-3-oxo-bicyclo[4.1.0]hept-4-eneへのエポキシ化続く開裂により、 α 配置の水酸基へと変換する事が出来た。更に数工程を経る事で水酸基の立体配置を反転させた(1R,2R,4S,5R,6R)-2-^tbutyldimethylsilyloxy-7,7-dimethyl-4-hydroxy-5-hydroxymethyl-4-vinyl-bicyclo[4.1.0]heptaneを得る事が出来、ここに12位への β 配置の水酸基の導入に成功した。

以上の様に著者は、細胞増殖調節機構に対するPMAの関与に興味を持ちPMAのadvanced analogの合成研究を行った。その結果二度の分子内ニトリルオキシド環化付加反応を鍵工程としてC、B環を立体特異的に構築し、更に分子内アルドール反応によりA環を形成する事で四環性化合物を得る方法論の確立に成功した。又PMAの12位に相当する位置への β 配置の水酸基導入法の確立に成功した。以上の結果は、PMAの基本骨格の光学活性体での合成の最初の例であり、かつ標的化合物に存在する七ヶ所の不斉中心を全て制御し得た事で、種々のadvanced analog合成に有効な興味ある知見と考えている。