

博士學位論文

論文内容の要旨

および

論文審査の結果の要旨

東邦大学

Pd(II) 触媒下のカルボニル化反応を基盤とした複素環化合物の 新規合成法の開発：配位子による反応制御と生物活性評価

医薬品分子設計学分野 有山 智博 ㊞

【背景・目的】

イソキサゾール、イソキサゾリンおよびフランは、天然物中にしばしば見出される構造単位で、医薬品化学的にも機能性材料分野においても重要な複素環である。また、ジアリールケトン構造も様々な生物活性化合物や医薬品に見られる特徴的な構造であり、ベンズブロマロン（痛風治療薬）、アミオダロン（抗不整脈薬）、ラロキシフェン（骨粗鬆症治療薬）のような医薬品が知られている。（Figure 1）したがって、多様な複素環を持ったヘテロジアリールケトン類の簡便な合成法を開発できれば、新たな化合物ライブラリーを構築でき創薬化学的にも有用である。

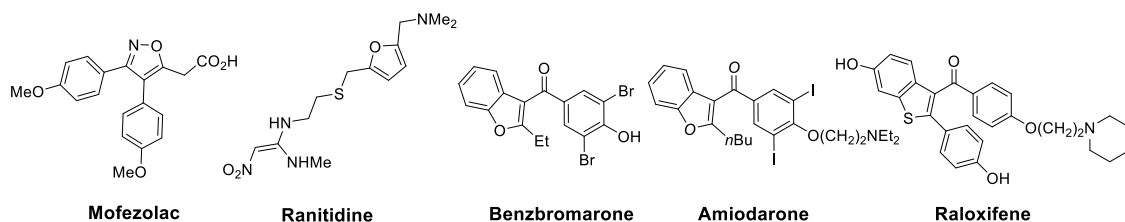
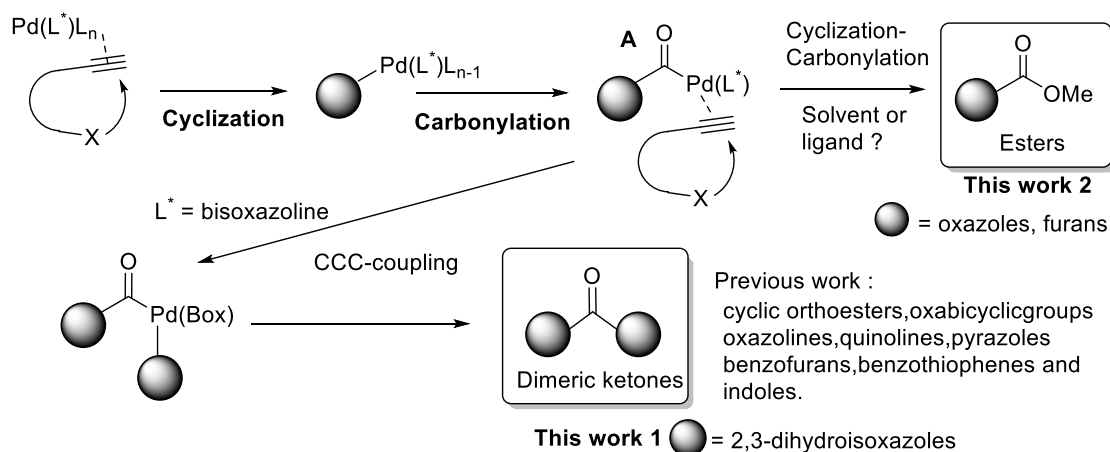


Figure 1

当研究室では「ビスオキサゾリン (box) の配位により、Pd(II) のアルキンへの親和性 (π -binding な Lewis 酸性) が強くなるという作業仮説に基づき、求核部位を持ったアルキン類の環化-カルボニル化-環化-カップリング反応 (CCC-Coupling) を報告している。¹ 本反応は1回の反応で2つの C-X 結合と CO の挿入を伴った2つの C-C 結合を連続して形成することにより、2つのヘテロ環を持つケトンを一挙に合成できる効率の良い反応である。(Scheme 1) そこで著者は、CCC-Coupling 反応が多様な複素環形成反応に応用できるこ



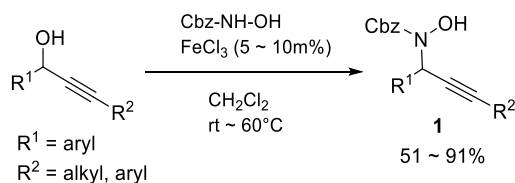
Scheme 1

とを明らかにする目的で、box-Pd(II) 錯体を用いた *N*-プロパルギルヒドロキシルアミン **1** のカルボニル化反応を検討した。また当研究室では、アレニルケトン **6** のカルボニル化反応についても検討しており、反応性の高いアレンの場合には box-Pd(II) 錯体を用いなくても CCC-Coupling 反応が進行することを報告している。² しかしながら、**1** および **6** の環化 - カルボニル化反応によるエステル体の合成については、いまだ報告されていない。そこで CCC-Coupling 反応と同様の反応条件において、配位子を工夫することで反応経路を変えエステル体を得る、“配位子による反応経路の制御”についても検討した。さらに、こうして得られた一群の複素環化合物のエストロゲン受容体へのリガンド活性を評価した。

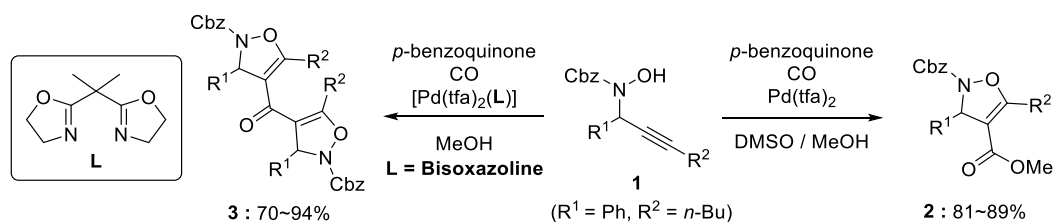
【結果】

第一章 *N*-プロパルギルヒドロキシルアミンのカルボニル化反応³

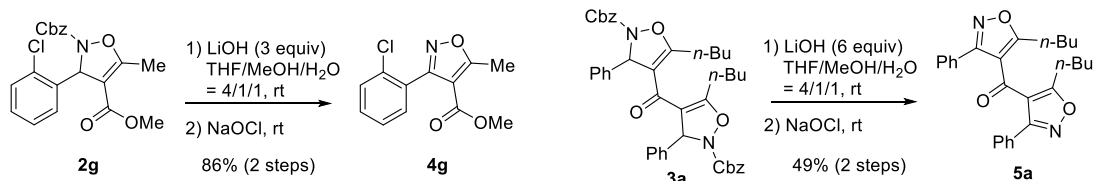
基質となる *N*-プロパルギルヒドロキシルアミン **1** は、対応するプロパルギルアルコールと Cbz 化ヒドロキシルアミンから、鉄触媒による求核置換を利用して合成した。(Scheme 2) 反応は一酸化炭素雰囲気下、5 mol% の box-Pd(II) 錯体および 1.5 当量の *p*-ベンゾキノン存在下、メタノール中で行った。その結果目的とする CCC-Coupling 反応が進行し、二量化したケトン **3** が 70-94%の収率で得られた。(Scheme 3) 一方、box 錯体の代わりに Pd(tfa)₂ を、さらに DMSO を MeOH との混合溶媒として用いたところ、反応経路が変わり収率良くエステル **2** が得られることがわかった。また得られたイソキサゾリン **2** および **3** は、Cbz 基の脱保護と酸化反応でイソキサゾールへ変換することが可能であった。(Scheme 4)



Scheme 2



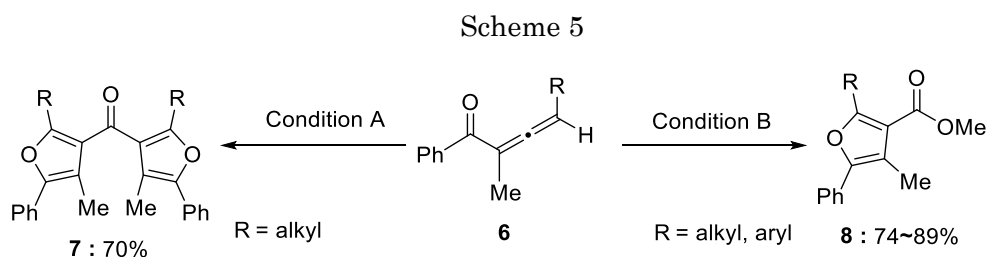
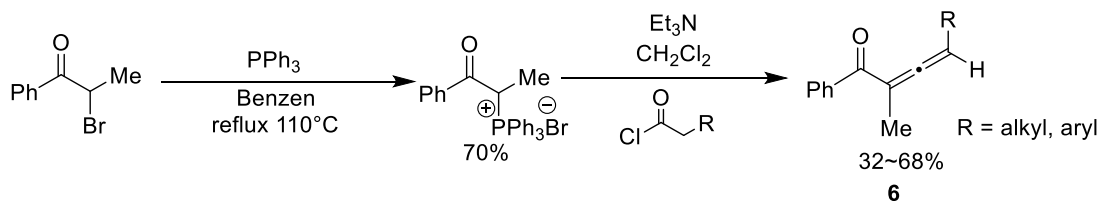
Scheme 3



Scheme 4

第二章 アレニルケトンのカルボニル化反応⁴

基質となるアレニルケトン **6** は、2-Bromopropiophenone と Triphenylphosphine から得られたホスホニウム塩と Et₃N と反応させた後、酸塩化物と反応させて合成した。(Scheme 5) 反応はこれまでと同様の条件下、第一章で有効であった DMSO を MeOH との混合溶媒として用いて行った。(Scheme 6, Condition B) その結果、すでに報告している Condition A とは反応経路が変わり、エステル体 **8** が 74-89%の収率で得られることがわかった。



Condition A : (CH₃CN)₂PdCl₂, *p*-BQ (1 equiv), MeOH

Condition B : Pd(tfa)₂, *p*-BQ (1.5 equiv), MeOH / DMSO = 2 / 1 ~ 1 / 1

第三章 エストロゲン受容体へのリガンド活性評価

ジアーニルケトン構造を有するラロキシフェンは、核内受容体であるエストロゲン受容体のリガンドである。そこで、今回合成した化合物のエストロゲン受容体に対するリガンド活性を評価することにした。5% charcoal stripped FBS 含有培地で培養したヒト胎児腎臓由来 HEK-293 細胞に 0.1 µg/well の GAL4 応答配列を含むルシフェラーゼレポーターベクター (pG5-luc.)、0.05 µg/well の GAL4-ER α LBD 発現ベクター、0.01 µg のレニラルシフェラーゼコントロールベクター [pGL4.74, Renilla/TK] をトランスフェクションした。24 時間培養後、必要量の Estradiol (E2)、Raloxifene hydrochloride (Ral)、Bazedoxifene Acetate (Baz) および合成した化合物を添加した。ネガティブコントロールには薬物と同用量の溶媒 (DMSO) を添加した。添加から 24 時間後、Luciferase reporter assay によりエストロゲン受容体の活性化を評価した。本研究で合成された全 23 種類の化合物をスクリーニングした結果、agonist 活性のある化合物は見つからなかったが、antagonist 活性をもつ化合物 (**2i**) が確認された。作用の強さは、Ral、Baz ほどではないもののコントロールの半量程度までの抑制が認められた (EC₅₀: 0.12 µM)。また、その抑制機構を考察するために、E2 の濃度を増加させたが活性の回復は認められなかった (Figure 2)。詳細な作用機

序を明らかにするまでには至っていないものの、Ral など従来の薬剤のようにエストロゲン受容体に競合的に作用するものとは異なる経路で阻害している可能性が示唆された。

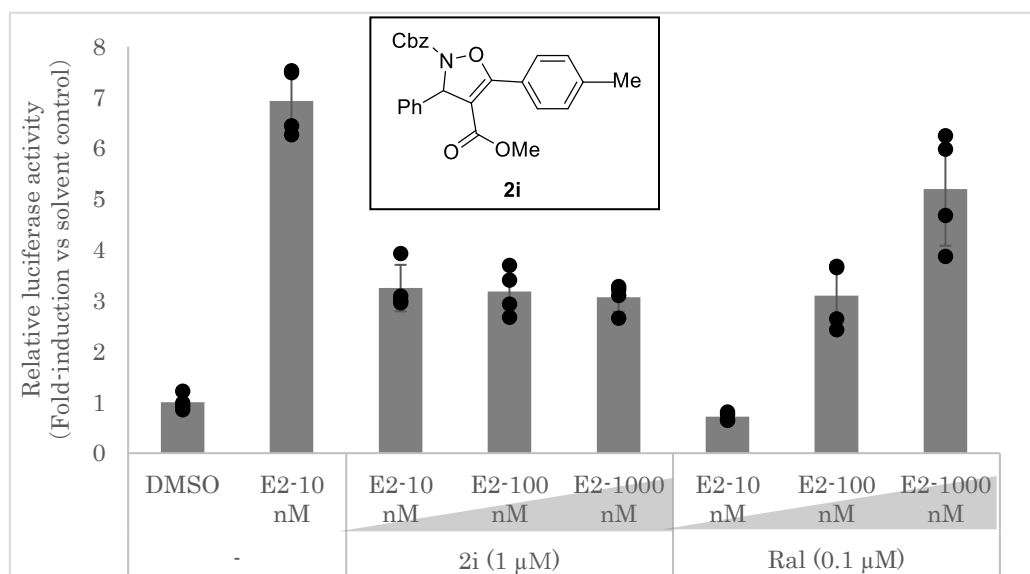


Figure 2

【結語】

今回著者は、CCC-Coupling 反応の基質一般性の拡大を目的に *N*-プロパルギルヒドロキシルアミン **1** のカルボニル化反応を検討した結果、二量化したケトン体が収率良く得られることを見出した。また、同様の反応条件で配位子を変えるだけで反応経路を変え、エステル体を得ることに成功した。アレニルケトン **6** のカルボニル化においても、同様の手法により配位子による反応の制御が可能であることがわかった。さらに、本反応により合成された新規化合物群のスクリーニングを行ったところ、エストロゲン受容体の antagonist 活性が示唆される候補化合物を見出した。今後この作用機序について明らかにしていきたい。

【謝辞】

エストロゲン受容体へのリガンド活性評価をご指導頂きました公衆衛生学教室の根本清光教授ならびに菅野裕一郎講師に深く感謝申し上げます。

【参考文献】 * 対象論文は 3

1. S. Yasuhara, M. Sasa, T. Kusakabe, H. Takayama, M. Kimura, T. Mochida, K. Kato, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 3912-3915.
2. K. Kato, T. Mochida, H. Takayama, M. Kimura, H. Moriyama, A. Takeshita, Y. Kanno, Y. Inouye, H. Akita, *Tetrahedron Lett.*, **2009**, *50*, 4744-4746.
3. **T. Ariyama**, T. Kusakabe, K. Sato, M. Funatogawa, D. Lee, K. Takahashi, K. Kato, *Heterocycles*, **2016**, *93*, 512-528.
4. In preparation.

本論文は、パラジウム触媒下のカルボニル化反応を基盤とした複素環化合物の合成法の開発と生物活性評価に関するものである。

序論では、一般的なパラジウム触媒反応や従来のカルボニル化反応について概説した後、本論文で検討された CCC-Coupling 反応に関するこれまでの知見について述べられている。そしてイソキサゾール、イソキサゾリンおよびフランといった複素環化合物の医薬品化学的な重要性およびジアリールケトン構造を持つ医薬品などが示され本研究の目的と意義を明らかにしている。

第一章では、*N*-プロパルギルヒドロキシルアミンのカルボニル化反応を検討した結果、同じ原料に対してほぼ同様な条件で反応を行うにもかかわらず、用いる配位子によって反応経路が変わり二種の生成物を作り分けることが可能であることが示されている。すなわち DMSO を配位子として用いるとエステルが、一方ビスオキサゾリン (box) を配位子として用いることで二量化したケトンが、それぞれ高収率で得られることを明らかにしている。Box 配位子で二量化したケトンが得られる反応パターンは CCC-Coupling 反応として、先に有山氏の研究室から報告されているが、本研究はその基質一般性をさらに発展させるものである。

第二章では、アレニルケトンのカルボニル化反応について述べられている。アレニルケトンは、集積二重結合という特異な構造から反応性が高く、環化と同時に二量化する傾向が強い。そのためアレニルケトンのカルボニル化反応では、二つのフラン環を持ったケトンが主生成物として得られてしまい、単環のエステルを収率良く得ることは困難であった。そこで有山氏は、前出の DMSO に着目し、これを配位子として用いることで反応経路が変わり単環のエステルが高収率で得られることを見出した。

第三章では、本研究によって合成された 23 種の複素環化合物のエストロゲン受容体 (ER) に対するリガンド活性評価について述べられている。すなわちルシフェラーゼレポーターアッセイを用い評価した結果、antagonist 活性を有することが示唆される化合物が見出された。現時点で詳細な作用機序を明らかにするまでに至っていないものの、Raloxifene など従来の SERM のようなエストロゲン受容体に競合的に作用するものとは異なる別の経路による阻害作用を有する可能性が示唆された。

以上のように本論文は、パラジウム触媒を用いた反応から合成した化合物の活性評価へと幅広く研究を展開しており、今後の発展が期待される。また口頭試問の結果、研究者として独立していくために必要な問題発見、解決能力を十分に有しており、博士号を授与するにふさわしいと判断する。

2019年2月22日

薬化学教室 加藤恵介