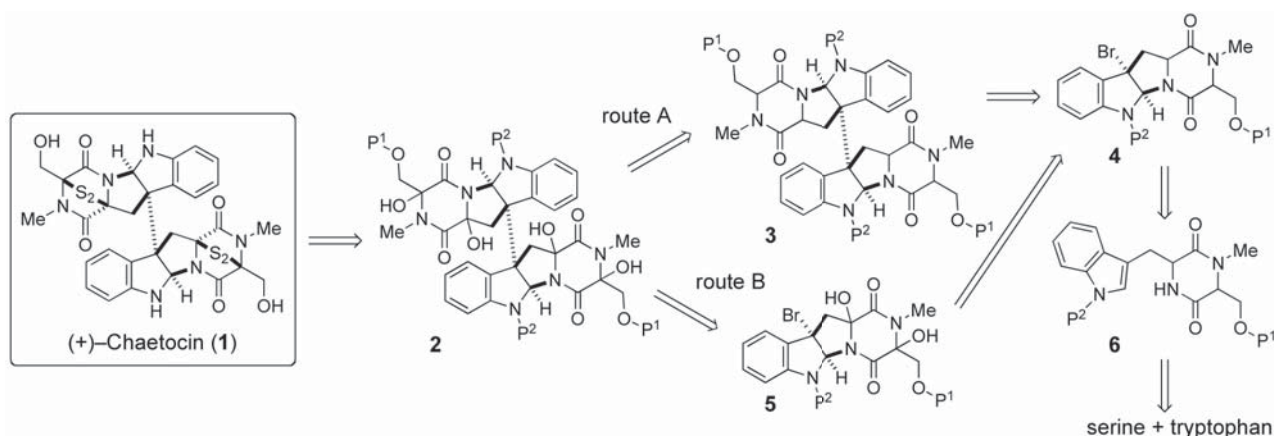


氏名	岩佐 江梨子
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記号番号	博理工甲第 815 号
学位授与年月日	平成 22 年 9 月 17 日
学位授与の条件	学位規則第 4 条第 1 項該当
学位論文題目	ヒストンメチル化酵素阻害剤 Chaetocin の全合成と構造活性相関
論文審査委員	委員長 連携教授 袖岡 幹子 委員 教授 千原 貞次 委員 連携教授 伊藤 幸成 委員 連携教授 吉田 稔

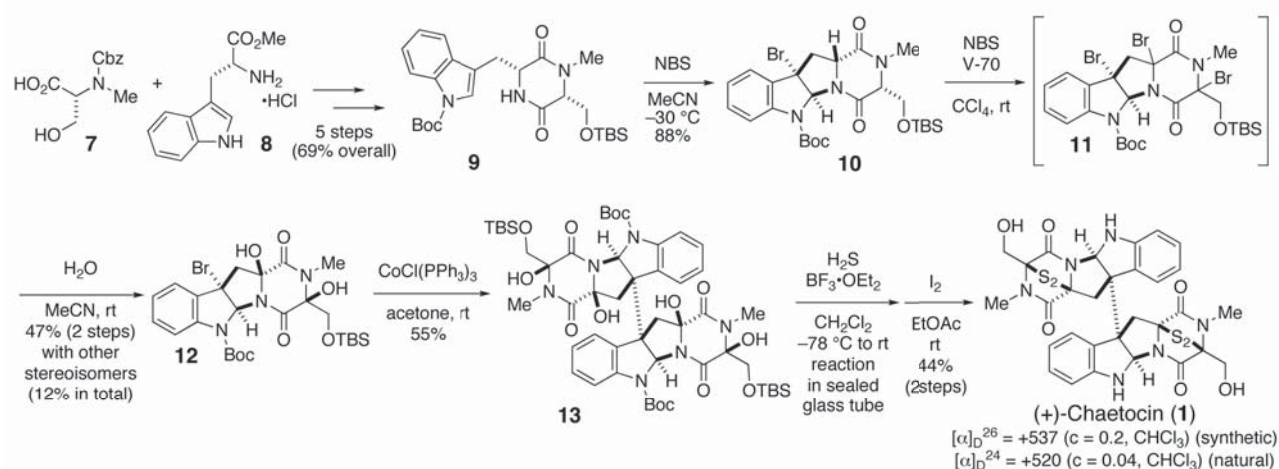
論文の内容の要旨

(+)-Chaetocin (**1**) は 1970 年に *Chaetomium minutum* から単離された真菌の二次代謝産物のひとつである¹⁾。2005 年、**1** がヒストンのメチル化酵素阻害能を有することが報告された²⁾。遺伝子の発現のオン/オフを司るヒストンのメチル化は、種々の疾患に関与する事が示唆されているが、その制御メカニズムは未解明である。そのため、ヒストンのメチル化酵素阻害剤である **1** は有用なバイオプローブとして期待されている。**1** の構造は、1972 年に X 線結晶構造解析により決定されており、エピジチアジケトピペラジン骨格を有する四環性化合物が二量化した対称な構造を有している³⁾。また、様々な反応条件に不安定なジスルフィド結合とヒドロキシル基および 8 カ所の不斉点を有し、合成化学の見地から見ても極めて興味深い標的化合物であるが、その複雑な構造のために単離・構造決定から 40 年近く経つ 2009 年現在でも全合成は達成されていなかった。天然からの供給量も微量であることから、ヒストンメチル化酵素阻害剤として有望な **1** の化学合成による安定な供給は意義深い。また、**1** は細胞毒性が報告されていることから、毒性の無い、より優れたメチル化阻害能を有する分子を創製する上でも、構造活性相関研究は極めて重要であると考えられる。そこで本研究では、**1** の全合成ルートの確立とともに誘導体の合成と構造活性相関について明らかにすることを目的とした。



Scheme 1.

1の対称な構造に着目し、Scheme 1に示した逆合成ルートを考案した。酸化還元条件や塩基性条件に不安定なジスルフィド結合は、置換反応を利用することで合成の最終段階で導入することにした。その前駆体としてジケトピペラジン部位の α 位を酸化したテトラオール2を設計した。2の合成にあたり、まず二量体構造を構築してから α 位を酸化するルートAを検討した。3の合成にあたっては、ジケトピペラジン6のインドール環の一電子酸化を経る酸化的環化-二量化を検討したが、複雑な混合物を与えるのみであった。そこで、Movassaghiらの報告⁴⁾を参考に、セリンおよびトリプトファンから誘導したプロモ体4に一価のコバルト錯体を用いて還元的ラジカル二量化を検討したところ、二量化は円滑に進行し3を得ることができた。3の α 位の酸化については、塩基性条件とラジカル条件を検討したが、ともに不安定であることが分かったので続いてルートBを検討した。ルートBでは、ジケトピペラジン4の α 位を酸化したのちに二量化を計画した。実際の合成スキームをScheme 2に示した。



Scheme 2.

D-セリンから誘導した *N*-Cbz-*N*-メチル-D-セリン7とD-トリプトファンメチルエステル8を出発原料として、ジケトピペラジン9を常法に従って収率良く合成した。得られた9とNBSをアセトニトリル中-30℃で反応させたところ、*exo*閉環した10を単一生成物として収率88%で得た。10の相対立体配置の決定は誘導体のX線結晶構造解析によりおこなった。続いて10に対して室温下で使用できるラジカル開始剤V-70を用いたラジカルプロモ化の条件に付したところ、反応は円滑に進行しトリプロモ体11を得た。11を単離すること無く水と反応させたところ、ヘミアミナル部位の立体異性によるジアステレオマーが4つ生成したが、そのうちジオール12を収率47%で得ることができた。12に一価のコバルト錯体 $\text{CoCl}(\text{PPh}_3)_3$ を用いて還元的ラジカルカップリングをおこなった。その結果、比較的不安定なヘミアミナル構造を有する12の二量化が進行し、望みとする二量体13を収率55%で得ることができた。最後に、13に対して、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 存在下、硫化水素を反応させたところ、全ての保護基の除去と同時にジケトピペラジン α 位にチオール基を導入することができた。これを単離すること無くヨウ素で酸化してジスルフィド結合を形成し、1の初の全合成を達成した⁵⁾。

次に、1の絶対立体配置および硫黄官能基がヒストンメチル化酵素阻害活性に及ぼす影響を合成化学的に調べるために、全合成ルートをもとにL-アミノ酸誘導体を出発原料として非天然型の*ent*-Chaetocin(*ent*-1)および、硫黄官能基欠損型Chaetocin誘導体(14、15)を合成した。合成した化合物を用いて、種々の疾病への関与が報告されているヒストンメチル化酵素G9aに対する阻害活性試験をELISA法によりおこなった(Figure1)。興味深いことに、1とその光学異性体である*ent*-1は同程度の阻害活性を示した。また、硫黄官能基が欠損した14および15は阻害活性を全く示さなかった。このことから、Chaetocinの硫黄官能基がG9a阻害活性に必須であることが明らかとなった。

Inhibitory activity against histone methyltransferase G9a

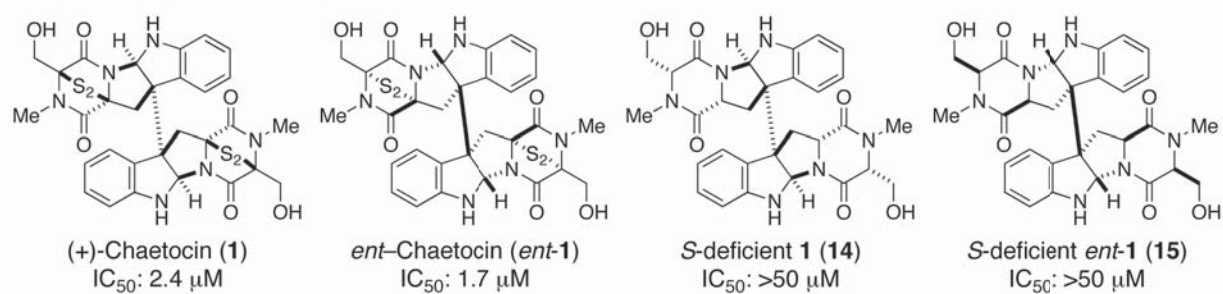


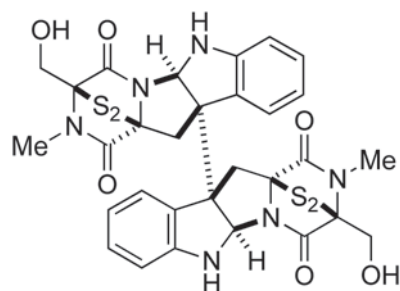
Figure 1.

参考文献

- 1) Hauser, D.; Weber, H. P.; Sigg, H. P. *Helv. Chim. Acta.* **1970**, *53*, 1061-1073.
- 2) Greiner, D.; Bonaldi, T.; Eskeland, R.; Roemer, E.; Imhof, A. *Nat. Chem. Biol.* **2005**, *1*, 143-145.
- 3) Weber, H. P. *Acta Crystallogr.* **1972**, *B28*, 2945-2951.
- 4) Movassaghi, M.; Schmidt, M. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3725-3728.
- 5) Iwasa, E.; Hamashima, Y.; Fujishiro, S.; Higuchi, E.; Ito, A.; Yoshida, M.; Sodeoka, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4078-4079.

論文の審査結果の要旨

(+)-Chaetocin (**1**) は、1970 年に *Chaetomium minutum* から単離された真菌の二次代謝産物のひとつである。2005 年に初めてヒストンメチル化酵素阻害剤として報告されて以来、注目を集めている化合物である。ヒストンのメチル化は種々の疾病への関与が示されているが、詳細な制御メカニズムは明らかにされていないことから、**1** はエピジェネティック研究の為にバイオプローブ分子として期待されている。しかし **1** は細胞毒性を有していることから、毒性の無い、より優れたヒストンメチル化阻害能を有する分子を創製する必要があり、そのためにも、**1** の構造活性相関研究は極めて重要である。**1** の構造は既に 1972 年に X 線結晶構造解析により決定されているにもかかわらず、複雑な構造のため、その単離から 40 年近く経つ 2009 年の時点でも全合成は達成されていなかった。**1** の天然からの供給量は限りがある為、**1** の化学合成による安定供給は大変意義深いと考えられる。



(+)-Chaetocin (**1**)

申請者は、**1** の全合成に世界で初めて成功し、さらに **1** のヒストンメチル化酵素に対する構造活性相関研究を行った。その詳細について述べている本学位論文の要旨を以下に記す。

第一章 序論

本学位論文で議論するヒストンメチル化に関する背景ならびに研究目的について述べられている。はじめに遺伝子発現制御のしくみについて述べるとともに、それに深く関与するヒストン修飾について概説している。さらに特にヒストンメチル化の意義とその阻害剤について述べている。これらを基に、**1** を用いてヒストンメチル化の制御メカニズムを明らかにすることの意義について議論されている。

第二章 Chaetocin の逆合成解析と 2,5-ジケトピペラジンの合成

1 の逆合成解析とそれに基づく中間体の合成の詳細が述べられている。**1** に類似した 2,5-ジケトピペラジン二量体インドールアルカロイド化合物の全合成例を記述するとともに、それらの化合物と **1** との違いを示し、この考察をもとに逆合成解析をおこなっている。全合成の達成のみでなく、さらにそれに基づく構造活性相関研究を目標とし、アミノ酸を出発原料とする、ふたつの合成ルートを立案している。さらにこれらの逆合成ルートに共通する中間体となる 2,5-ジケトピペラジンの合成についても述べられている。

第三章 炭素骨格の構築

本章では、第二章で立案したふたつの逆合成ルートの検討による、**1** の八環性骨格の構築について述べられている。酸化的閉環二量化反応はうまくいかなかったものの、還元的二量化反応を鍵反応として用いるルートにより目的物が得られた。すなわちまず、プロモ環化反応を用いて立体選択的に四環性骨格の構築を行った。得られた四環性化合物について NMR および誘導体の X 線結晶構造解析を行い、その立体構造の決定を行った。また、立体選択性発現のメカニズムについても考察している。さらに、得られた四環性化合物を還元的ラジカルカップリングの条件に付すことで、**1** の八環性炭素骨格の合成を達成した。

第四章 炭素骨格へのジスルフィド結合の導入

1 の全合成の最終ステップである硫黄官能基の導入について述べられている。置換反応を用いた硫黄官能

基の導入を計画し、まず第三章で合成した八環性化合物の α 位の酸化を種々検討した。その結果、八環性化合物の酸化は困難であり、二量体構造を構築する前に酸化段階を上げる必要がある事がわかった。検討の結果、四環性化合物の酸化には、室温下で使用できるラジカル開始剤を用いたラジカル臭素化が有効であることが見いだされた。 α 位を臭素化した四環性化合物に水を作用させて対応するジオールへと変換した後、還元的二量化を行ったところ、目的とする八環性化合物が得られた。これをルイス酸条件下、硫化水素と反応させることでヒドロキシル基のチオール基への変換と同時に保護基の除去を行い、さらにそのままヨウ素で酸化することにより、**1**の初の全合成を達成した。天然型の**1**の合成にはD-アミノ酸を出発原料として用いたが、L-アミノ酸を出発原料として用いる事により、**1**の対掌体 *ent*-Chaetocin (*ent*-**1**)の合成も行った。

第五章 Chaetocin 類縁体のヒストンメチル化酵素阻害活性評価

全合成ルートをもとに、Chaetocinの硫黄原子欠損体についても、その両対掌体の合成を行った。これらの化合物について、種々の疾病との関連が報告されているヒストンメチル化酵素 G9a に対する阻害活性試験を行なった。その結果、Chaetocinの絶対立体化学は活性に大きな影響はなく、ジスルフィド結合がChaetocinのヒストンメチル化酵素阻害能の発現に重要なことを明らかにした。

以上のように本論文は、これまでに全合成が達成されていなかった、たいへん複雑な構造をもつ**1**の初の全合成を達成し、さらには天然からは得られない対掌体 *ent*-**1** ならびに硫黄原子欠損体も合成し、それらの構造活性相関研究から、ヒストンメチル化酵素の阻害活性にChaetocinの硫黄官能基が重要であることを明らかにした。これらの研究成果はヒストンメチル化研究の進展に役立つものと考えられ、ポストゲノムバイオロジー研究として目覚ましい発展をとげつつあるエピジェネティクス研究への貢献が期待される。本論文の研究結果はJournal of the American Chemical Society誌に申請者を筆頭著者とする論文として掲載された。さらに、本学位論文で初めて合成された非天然型の *ent*-**1** については、天然型とは異なるユニークな細胞死誘導能を持つ事が見いだされ、その報告がBioorganic & Medicinal Chemistry Letters誌に掲載された。このように、本論文は、有機合成化学として重要な成果を含むものであるばかりでなく、生物学研究の進展にも寄与するものである。以上のことから、本審査委員会は申請者の学位論文を博士（理学）の学位に十分に値する（合格）と判断する。