

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 8 日現在

機関番号：34419

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790116

研究課題名(和文)還元酵素特異的基質探索を指向したヘテロ環縮合ナフトキノン骨格構築法の開発

研究課題名(英文)Development of the synthesis of heterocycle-fused naphthoquinones toward specific substrate for DT-diaphorase

研究代表者

山下 光明 (Yamashita, Mitsuaki)

近畿大学・農学部・講師

研究者番号：20433641

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円、(間接経費) 1,020,000円

研究成果の概要(和文)：ヘテロ環縮合キノンの一挙構築法の開発を行った。ジメチルアミノ基とアルキニル基を導入したキノンを用いて、アンモニア水溶液あるいは一級アミンで処理するとタンデム型付加脱離/分子内環化反応が進行し、対応するインドールキノン体の効率的合成に成功した。しかし、当初の目的であるインドールキノンの3位炭素官能基導入には至らなかったため、別法での合成を試みた。検討の結果、温和な条件による銅触媒反応を開発し、2-アルキニル化アニリンからの3-シアノ化インドール類合成反応の開発に成功した。また興味深いことに、本反応を検討している途中で、インドール類のベンゾキサジノン類への効率的変換反応を見出すことができた。

研究成果の概要(英文)：A concise method for the synthesis of heterocycle-fused naphthoquinones such as 1H-benz[f]indole-4,9-dione was developed. This method employed Sonogashira coupling and tandem addition-elimination/intramolecular cyclization, and it enabled the preparation of versatile heterocycle-fused naphthoquinones from one substrate. However, introduction of C1 unit at 3-position was failed. Alternatively, we developed direct methods for the synthesis of 3-substituted indoles from o-alkynylanilines by utilizing a copper-catalyzed tandem intramolecular cyclization/coupling reaction. Moreover, we developed an efficient method for the transformation of indoles by utilizing a copper catalyst and molecular oxygen as the oxidant. The transformation involves a tandem oxidative process of 2-arylindoles. Our reaction afforded a variety of N-benzoyl anthranilic acids and benzoxazinones.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：生物活性物質 インドール キノン タンデム反応

1. 研究開始当初の背景

生体内で活性化されることにより、その機能を発揮する化合物群に注目し研究を行っている。抗がん剤として知られるインドールキノン化合物、マイトマイシンCは還元酵素による活性化を経て抗がん作用を示すことが知られている。すなわち、(1)生体内でベンゾキノン環が還元された後に生成する求電子的活性種がDNAと結合し架橋を形成することでアルキル化剤として機能する、(2)ヒドロキノン、セミキノンが分子状酸素を活性酸素へと変換することで細胞死を引き起こす、という2点の主な機能により抗がん活性を示すものである。いくつかのがん細胞では正常細胞に比べて還元酵素の活性が高まっており、これらの違いに着目した医薬品開発が現在精力的に行われている(*Clinical Oncology*, **2007**, *19*, 427.)。還元酵素としては、2電子還元剤であるDT-diaphoraseに注目が集まってきている。本酵素が、骨髄細胞では存在しないためキノンの活性化が起きず、多くの抗がん剤で問題となる骨髄毒性の発現を抑えられることが期待できるためであろう。そのため、これら還元酵素により特異的に代謝活性化される適当な基質を探索することは、有望な抗がん剤となりうるとともに、がん細胞特異的にHX部分を放出する(右上図)などの機能性分子として期待できる(*Medicinal Research Reviews*, **2009**, *29*, 29.)。実際、マイトマイシンをモデルに開発された化合物であるEO9は、海外では第三相臨床試験が、国内でも第一相臨床試験が行われている。本化合物は、マイトマイシンCと比較してDT-diaphoraseによる還元活性化に大きく依存していることが知られており、選択的抗がん剤として有望視されている。我々の研究グループでは、ノウゼンカズラ科 *Tabebuia avellanedae* (Tahebo) から単離された微量成分ナフトキノンをマイトマイシンCと同程度のがん細胞の成長抑制効果を示すことをすでに明らかにしている。同じ植物から得られてくる、 β -lapachoneは、DT-diaphoraseの特異的基質であることがすでに報告されており(*J. Biol. Chem.* **2000**, *275*, 5416.)。先述のナフトキノンの活性発現も同様に、DT-diaphoraseの特異的基質に起因するキノン部分の代謝活性化によるものではないとかとの作業仮説を立てた。この説が正しければ、ナフトキノン類も、DT-diaphoraseの特異的基質として有望であると期待できる。

2. 研究の目的

本研究を開始するに当たり文献の詳細な調査を行った結果、インドールキノン化合物を含めたヘテロ環縮合ナフトキノン類の直接的効率的合成法は、ほとんど知られておらず現在もなお挑戦的課題であることが分かった(最近の報告例: Inman, M. *et al.*, *J.*

Org. Chem. **2010**, *75*, 6023. Shvartsberg, M. S. *et al.*, *Tetrahedron Lett.* **2009**, *50*, 6769.)。例えば、主なインドールキノン合成法は、インドール骨格を数工程掛けて構築した後、酸化反応を経て最終的にインドールキノン骨格へと変換するものであった(最近の報告例: Huang, B. *et al.*, *Org. Lett.* **2010**, *12*, 1384.)。還元酵素特異的に活性化されるキノン類探索のため、ヘテロ環縮合キノン類の効率的合成法の開発を行う。ベンゾフラン環やインドール環などのヘテロ環の構築は近年盛んに報告されている遷移金属触媒を用いた反応例を参考に行う(参考例: Larock, R. C. *et al.*, *Chem. Rev.* **2004**, *104*, 2285.)がキノンの特性を生かした直接的合成法の確立を行いたい。我々の研究室ではすでに、遷移金属触媒による連続反応を用いた、インドールキノン類合成法の開発を行っている。これらの結果を端緒とし、本研究ではさらなる高効率かつ高汎用性のヘテロ環縮合キノン類の合成を目指す。すなわち、ハロゲン化キノンを出発物質としてアミンやチオール類などを付加させてヘテロ原子を導入したキノンへと変換した後、菌頭反応、同条件下での閉環反応、置換反応を経て多置換ヘテロ環縮合キノンを一挙構築することができると期待した。本研究では、効率的合成法の開発を念頭に置いて、容易に入手・合成可能なハロゲン化キノンを出発物質としたヘテロ環縮合キノン類の一挙構築法の開発を行いたい。EO9の開発研究において、置換基の酵素特性に与える影響に関する知見が得られている。それらを、参考にして研究を遂行することで確実性の高い探索を行う。また、対象となるのは、チトクロームP450やDT-diaphoraseなどの内因性還元酵素の他に、nitroreductaseなどの外因性還元酵素の基質となるかどうかの検討を行う。開発したインドールキノン類において、特に酵素特異性を持つ化合物群を用いて、機能性分子開発研究への展開を行う。第一に、がん細胞の成長抑制作用を検討することを優先的にを行う。また、成長抑制が弱い場合でも、インドールキノン化合物はがん細胞にて特異的に、分子を放出する役割を担うことができるので、機能性分子開発へと展開を行うことができる。本研究の1つ目の特色は、インドール環部分の一挙構築法の開発にある。我々の現在までの研究で、インドール合成において用いられる置換アニリン類を基質とした既存の反応条件はキノンを基質とした場合では、適応できない場合があることをすでに明らかにしている。そのため、本研究課題は有機合成化学、創薬化学上の新たな可能性を広げるものになると信じている。本研究のもう一つの特色は、還元酵素による活性化をへて、初めてその機能を発揮するキノンの探索にある。酵素特異的に還元活性化される分子を見出すことができれば、医薬品

や機能性分子へと展開できる。また、本研究によりいまだ不明である活性発現の作用機構について重要な知見が得られるものと期待している。

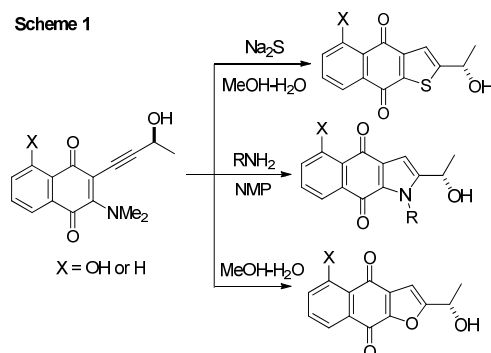
3. 研究の方法

置換ベンゾフランやインドール骨格の直接的構築法は近年もなお盛んに報告されており以下のようなルートで容易に合成可能であろう (Wang, R. *et al.*, *Adv. Synth. Catal.* **2011**, 353, 713. Ohno, H. *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, 46, 2295.)。すなわち、オルトハロゲン化フェノールやアニリンを出発物質として、菌頭反応によりアルキニル基の導入、分子内閉環反応を行い、ベンゾフラン及びインドール環を一挙構築する。その後 CAN や CrO_3 などを用いた酸化反応を行えば多置換キノン類も容易に合成できる。同様に、ベンゾチオフェン骨格の構築は、Malte らの銅塩を用いたベンゾチオフェン合成の報告例などがある (Malte *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, 89, 6770.)。本反応は銅塩が当量以上必要であるものの、アリールハライドと末端アセチレンとの Castro タイプのカップリング反応、さらに分子内閉環反応が速やかに進行し、高収率にてベンゾチオフェンを得ている。しかしながら、これら従来の方法では、ヘテロ環縮合キノンを合成するのにベンゼン環上にメトキシ基などの特定の官能基の事前の導入と、最後に酸化処理してキノンへと変換する必要がある必然的に操作が煩雑となる。本研究では上記の反応を参考に行うが、キノンの特性を活かしたヘテロ環縮合キノンの一挙構築法の開発を行う。すなわち、ヘテロ原子の導入及びアルキニル基の導入、閉環反応のタンデム型反応をワンポットで行う。本反応の特徴として以下の点があげられる。キノンをマイケルアクセプターとして捉え、ヘテロ原子の導入を行う。既に、アミン類やチオール類が速やかにキノンに付加すること、酸素存在下にて付加成績体が速やかにキノンに再酸化されることも確認している。ハロゲン化キノンは菌頭カップリングの良い基質であり、アセチレンの置換基 (上図 R^2 部分) を変更することで多彩な誘導体合成が可能となる。また、金属のルイス酸性を活かしてカップリングと閉環を一挙に行う。さらに、閉環時に生じたアリールメタル種を求電子剤で補足することで置換基を3位 (アセチレン由来炭素上) に導入する方法も確立したい。構造活性相関研究を行う上で置換基の入れ替えが容易である本法の利点が生かせる。本反応は遷移金属触媒とキノンの特性を活かした効率的合成法になると期待している。

4. 研究成果

まず初めに、キノンの特性を活かしたヘテロ環縮合キノンの一挙構築法の開発を行

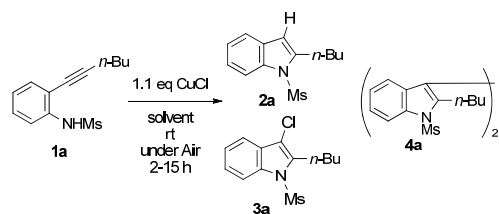
った。すなわち、ジメチルアミノ基とアルキニル基をキノンに事前に導入した基質を用いることで、ヘテロ原子の導入、閉環・置換反応のタンデム型反応をワンポットで行うことが出来ると期待した。検討の結果、アンモニア水溶液あるいは一級アミンで処理するとタンデム型付加脱離 / 分子内環化反応が進行し、対応するインドールキノン体の合成を効率的に行うことができた。本反応はジメチルアミノ基部分を酸素、窒素、硫黄官能基で置き換えた後に閉環反応を行うことで、1つの基質から様々なヘテロ環を有する誘導体合成が可能であり有用な反応である (Scheme 1)。



しかしながら、インドールキノンの3位炭素官能基の導入を種々検討したが、成功には至らず、改善の余地があった。3位炭素官能基の導入を実現するために、アルキニル化アニリン誘導体を基質に用いて金属触媒を用いたタンデム型閉環・置換反応の検討を行うこととした。本研究を始める前にインドール骨格構築法として知られているオルトアルキニル化アニリンのタンデム型環化/置換反応に関して文献調査を行ったところ、銅塩のみを用いた3位置換インドール合成反応はごく少数しか知られていないことが明らかとなった。Pyne らは、 CuCN を触媒とした環化/シアノ化反応による3位シアノ化インドール合成を (*J. Org. Chem.* **2010**, 75, 3412.)、Shen らの報告では、2価の銅塩を用いた3-ハロゲン化インドールの合成を (*Adv. Synth. Catal.* **2009**, 351, 3107.) 報告しているが、これらの方法は、実用的な部分で問題を有することが明らかとなった。

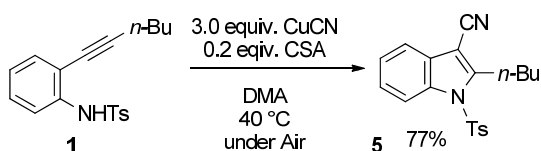
我々の検討の結果、空気雰囲気下、オルトアルキニル化アニリンと化学量論量の銅塩を用いて反応を行うと、非プロトン性極性溶媒とカンファースルホン酸などの添加物によって反応成績体の割合が大きく異なることが明らかとなった (Table 1)。本知見をもとに反応条件の最適化を行うことで、インドール骨格の3位にシアノ基を温和な条件で導入する反応開発に成功した (Scheme 2)。本反応は従来法の問題点を改善した温和な条件下での実用的なインドールの3位へのC1ユニット導入反応であると言える。

Table 1. Reaction of *o*-alkynylanilines (**1a**) with CuCl under air



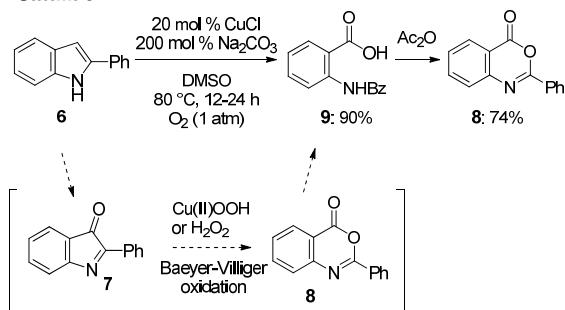
Entry	Solvent	Yield (%)		
		2a	3a	4a
1	DMSO	34	10	34
2	DMF	15	15	52
3	DMA	8	51	20
4	NMP	7	47	30

Scheme 2



また、先述の反応を検討している途中で興味深いことに、銅触媒と分子状酸素を用いたインドール類のベンゾキサジノン類への新規効率的変換反応を見出すことができた。本反応は酸化的連続反応により進行するものと考えている。すなわち、化合物 **6** が酸化されて **7** に、さらにバイヤー・ピリガー酸化反応を経て **8** に、最後に加水分解をうけて **9** へと変換されるものであると想定している。化合物 **9** を無水酢酸で処理することにより化合物 **8** として得ることも可能である。本反応は、様々な置換基を持つインドール化合物を基質として適応可能であり、有用な骨格構築法であると言える (Scheme 3)。

Scheme 3



5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

(雑誌論文)(計 3件)

山下光明、飯田彰 査読有
Copper-mediated Oxidative Tandem Reactions with Molecular Oxygen: Synthesis of 2-Arylbenzoxazinone Derivatives from Indoles. *Tetrahedron Letters*, **2014**, 55, 2991–2993.

DOI: 10.1016/j.tetlet.2014.03.128

山下光明、野呂俊晃、飯田彰 査読有
Copper-catalyzed Tandem Intramolecular Cyclization/Coupling Reaction: Solvent Effect on Reaction Pathway. *Tetrahedron Letters*, **2013**, 54, 6848–6851.

DOI: 10.1016/j.tetlet.2013.10.012

上田和典、山下光明、阪口晃一、徳田春邦、飯田彰 査読有
Concise Synthesis of Heterocycle-Fused Naphthoquinones by Employing Sonogashira Coupling and

Tandem Addition-Elimination/Intramolecular

Cyclization. *Chem. Pharm. Bull.* **2013**, 61, 648–654.

DOI: 10.1248/cpb.c13-00102

(学会発表)(計 2件)

山下光明、飯田彰 銅触媒を用いたタンデム型 3 位置換インドール合成：非プロトン性極性溶媒の効果 日本薬学会第 134 年会 2014 年 3 月 27～30 日 熊本大学(熊本)

上田和典、山下光明、阪口晃一、徳田春邦、飯田彰 ヘテロ環縮合ナフトキノンの簡便合成法とがん細胞の成長抑制効果 日本薬学会第 133 年会 2013 年 3 月 27～30 日 パシフィコ横浜(横浜)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

山下 光明 (YAMASHITA, Mitsuaki)

近畿大学・農学部・講師

研究者番号：20433641

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：