

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2007年度～2010年度

課題番号：19201045

研究課題名（和文）天然神経毒をモチーフとした新規グルタミン酸リガンドの開発

研究課題名（英文） Development of Novel Ligand for Glutamate Receptors Using Natural Neurotoxins as the Structural Motif

研究代表者

大船 泰史 (OHFUNE YASUFUMI)

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：20142078

研究代表者の専門分野：有機合成化学、天然物化学

科研費の分科・細目：生物分子科学・生物分子科学

キーワード：カイトセファリン、カイニン酸、グルタミン酸受容体、アンタゴニスト、NMDA型受容体、全合成、エステル交換反応、連続マイケル付加環化反応

1. 研究計画の概要

L-グルタミン酸 (Glu) は哺乳動物の脳・中枢神経系における主要な興奮性神経伝達物質であり、グルタミン酸受容体 (GluRs) は運動や反射、記憶・学習、認知などの高次神経機能の形成、さらには脳虚血などによる脳・神経細胞死に連なる重篤な脳・神経疾患の引き金を引く。したがって、GluRs のアゴニストやアンタゴニストの開発は、脳・神経機能研究のためのツール分子や神経細胞死を抑える脳保護薬の創製の見地から急務とされている。カイトセファリンは天然由来としては初めてのイオンチャンネル型 GluRs アンタゴニスト活性をもつ化合物として単離された。これまでのカイノイド類など天然神経毒にはない神経活性と極性官能基が密集した構造特性を内包していることから、新世代の GluRs リガンドとして、また脳・神経疾患の治療薬のリード化合物として期待がもたれている。一方、微生物が生産する微量産物であり、さらに生産菌がその生産を停止したため、神経薬理的詳細の解析にはカイトセファリンの全合成による量的供給と構造活性相関研究が待望されていた。そこで、本研究では、(1) 効率的な合成経路の開発によるカイトセファリンの量的供給と各種誘導体合成、及び (2) カイトセファリンと代表的な神経興奮毒アミノ酸であるカイニン酸、アクロメリン酸及びダイシハーベインなどの構造をモチーフとした GluRs 選択的リガンドの設計・合成を行い、選択性に優れたリガンドの開発による神経科学研究のためのツール分子や脳保護薬のリード化合物の創成に取

り組んでいる。

2. 研究の進捗状況

(1) 量的確保を指向したカイトセファリンの効率的な全合成と各種誘導体合成

① 先の全合成 (2005 年) では、含窒素 4 級炭素部位の構築に成功したものの、多段階かつアラニン側鎖の立体選択的な構築に課題が残された。第 2 世代合成では段階数の大幅な短縮と量的供給へ向けたプロセス開発を目指し、カイトセファリンを三種のアミノ酸セグメントに分割し酸化段階の保持を基本戦略とした。まず、2,6-ジ置換ピロリジンとオルソエステル型セリン等価体のアルドル付加により右セグメントを構築し、次いでグリシネート型ホスフォネートをを用いた E 型デヒドロアミノ酸部位の導入、立体選択的水素化、保護基の除去によって、12 段階、通算収率 9% で目的が達成できた。第 2 世代合成により、鏡像異性体、C3,7,9 位立体異性体、芳香族アシル基改変体及び C9 デカルボキシ体の合成を行い、合計 12 種の誘導体を得た。放射性リガンドを用いた結合活性実験により、天然物も含め幾つかの類縁体が NMDA 型受容体に結合すること、3 位水酸基の立体配置が活性に強く影響することを明らかにした。

② 全合成過程におけるオルソエステルのエステル交換及びホスフォグリシネート反応剤の開発が高効率全合成の鍵反応として特筆される。前者ではリン酸水素二カリウムによる高い官能基許容性、後者では E 型選択的デヒドロアミノ酸の生成が大きな成果で

ある。

(2) 天然神経毒の構造をモチーフとした GluRs 選択的リガンドの設計・合成

① カイトセファリン右側鎖部位が受容体結合部位と推定される。そこで、右側鎖に対応した4種の光学異性体の合成を試みた。共通中間体として光学活性 α -ホルミルピログルタミン酸の高効率合成法を開発し、ホスフォノグリシネート反応剤との縮合、不斉還元により4種の異性体の合成に目途をつけた。

② カイノイド類はKA受容体の選択的なアゴニストである。AMPA/KA受容体の新規なリガンド開発に向けカイニン酸の全合成に取り組んだ。3置換ピロリジン部位の一挙構築を鍵段階とし、銅触媒を用いたイソシアノアセトアミドと不飽和ケトンとの連続マイケル付加・環化反応を試みた。その結果、ピロリン環の一挙構築、その立体選択的な水素化法も見出し、短段階でカイニン酸の全合成に成功した。

3. 現在までの達成度

①当初の計画以上に進展している。

(理由)

(1) 量的確保を指向したカイトセファリンの効率的全合成と各種誘導体合成：カイトセファリンを三つのアミノ酸成分に分割した合成設計により、短段階かつ高収率経路が開発できた。また、三成分の官能基変換により多様な誘導体合成に途を開くことができ、合計12種の誘導体が合成できた。当初AMPA/KA型受容体アンタゴニストとして単離されたカイトセファリンがその類縁体も含めNMDA型受容体に強い結合活性を示すという実験結果は予想外かつ初めての知見であり、脳保護薬のリードとなる合成類縁体の開発に一步前進できた。全合成の途上、温和かつ官能基許容性が高いエステル交換反応剤を見出し、オルソエステル型保護基のメチルエステルへの変換のみならず、その一般性も確認できた。さらに、新規安藤型ホスフォノグリシネート反応剤の開発により、*E*型デヒドロアミノ酸合成を初めて可能にした。*Z*型を与えるSchmidt法と組み合わせることによりペプチド化学への幅広い応用が期待される。

(2) 天然神経毒の構造をモチーフとした GluRs 選択的リガンドの設計・合成：光学活性プロリンから出発して α -ホルミルピログルタメートのそれぞれのエナンチオマーの大量供給が可能になり、ホスフォノグリシネート反応剤を用いたデヒドロアミノ酸への変換と不斉還元プロセスも確立できた。また、カイニン酸合成では、鍵となる連続マイケル付加・環化や水素化反応について立体選択性や有用性に関する知見を集積するとともに、

9段階、通算収率14%と、高効率合成プロセスが開発できた。

4. 今後の研究の推進方策

(1) カイトセファリンのC3位水酸基の立体配置が活性発現に大きく影響することがわかった。その役割を明らかにするために、C3デオキシ体を合成し、GluRsとの結合活性を評価しその役割を明らかにする。

(2) 受容体結合における立体配置や配座情報を得るために、ピログルタミン酸を中心構造にもつ構造単純化モデルとして4種の光学異性体の合成を完成しそれらの結合活性を評価する。また、アンタゴニスト活性の発現には芳香族アシル部位が必要であり、それに相当する官能基修飾を構造単純化モデルに施した類縁体の合成を行う。合成リガンドの神経興奮活性の評価とともに、(1)の研究と連動して脳保護薬開発のための候補物質の絞り込みを行う。また、カイニン酸の全合成プロセスにおけるイソシアノアセトアミドのマイケル付加・環化反応を分子内バージョンに拡張して、アクロメリン酸の全合成を推進する。

5. 代表的な研究成果

(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20件)

① M. Hamada, T. Shinada, and Y. Ohfuné, Efficient Total Synthesis of (-)-Kaitocephalin. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 4664-4667.

② T. Shinada, H. Yoshida, and Y. Ohfuné, Efficient Synthesis of (*R*)- and (*S*)- α -(Hydroxymethyl)pyroglutamic Acid. *Synthesis* **2009**, 3751-3756.

③ K. Oe, T. Shinada, and Y. Ohfuné, Short and Stereoselective Synthesis of Manzacidins A and C, and Their Enantiomers. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49*, 7426-7429.

[学会発表] (計68件)

① 濱田まこと (大船泰史) カイトセファリンの効率的全合成及び類縁体の神経活性、第51回天然有機化合物討論会、2009年10月7日、名古屋市公会堂

[図書] (計3件)

① Y. Ohfuné, K. Sakaguchi, and T. Shinada, Asymmetric Synthesis of α,α -Disubstituted α -Amino Acids: Strecker and Claisen Approaches. In, "Asymmetric Synthesis and Application of α -Amino Acids", Editors; Vadim A. Soloshonok and Kunisuke Izawa, ACS Symposium Series 1009; American Chemical Society, Oxford University Press, 2009, Chapter 4, pp57-71.