

平成21年5月8日現在

研究種目：若手研究（B）
研究期間： 2007～2008
課題番号：19790089
研究課題名（和文）
ACh エステラーゼ阻害活性を持つアルカロイドの探索と不斉全合成研究
研究課題名（英文） Isolation, structure elucidation and asymmetric total syntheses of alkaloids having ACh esterase inhibitory activity
研究代表者
小暮 紀行 (Noriyuki Kogure)
千葉大学・大学院薬学研究院・助教
研究者番号：80396689

研究成果の概要：

近年、高齢者の急増により、有効かつ安全な記憶障害改善薬の開発が急務となっている。アセチルコリンエステラーゼ (AChE) の働きを抑制することにより、脳内のアセチルコリン量を増加させ、記憶障害を改善することができる。

本研究では、植物成分からの分離・精製と化学合成により、AChE 阻害活性を有するアルカロイド（塩基成分）の創製を目的とした。その結果、植物より数多くの新規アルカロイドの単離に成功し、またそれらアルカロイドの効率的な全合成を達成した。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,900,000	0	1,900,000
2008年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,200,000	390,000	3,590,000

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：アルカロイド、不斉全合成、ACh エステラーゼ、リコポジウム、ヒガンバナ

1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会に突入した現在、高齢者にも安全に使用でき、有効な記憶障害改善薬の開発が急務である。高齢者の生活の質 (QOL) を良くすることにより、介護者の負担軽減にも大きく貢献する。

研究開始当初に、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害を作用機序とする認知症改

善薬として塩酸ドネペジル (アリセプト、**1**、**Figure 1**) が国内で初めて実用化された。さらに、同じ作用機序を有する植物由来の天然アルカロイド類として、フィゾスチグミン誘導体、ヒューペリチンA (**2**, *Lycopodium* アルカロイド)、ガランタミン (**3**, ヒガンバナ科アルカロイド) を素材とした創薬研究が世界各国で実施され、ガランタミン (レミニール) が欧米で臨床的に利用されるようになった。ま

た、これらとは作用機序が異なり、NMDA受容体を阻害することにより活性を示す塩酸メマンチン(4)が世界で初めて高度アルツハイマー型痴呆症治療薬として、EU加盟国で承認された。本薬剤はアメリカでも承認され、日本においても治験が進められている。しかし、これら薬剤の有効性は十分とは言えず、これらを凌駕する治療薬の開発、特に新規シード分子の発見およびリード化合物の創製が強く望まれている。

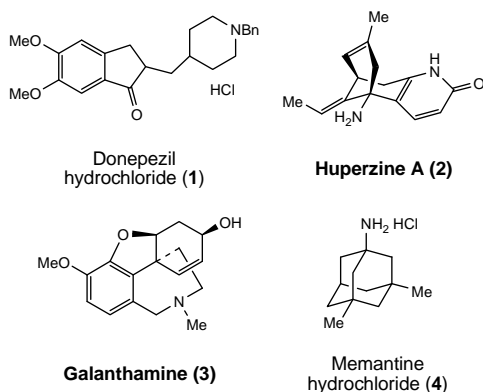


Figure 1.

2. 研究の目的

本研究においては、ヒカゲノカズラ科 *Lycopodium* 属植物とヒガンバナ科植物 (*Lycoris*属、*Haemanthus*属、*Crinum*属) に含有されるアセチルコリンエステラーゼ阻害作用を有するアルカロイドにターゲットを絞り、新規アルカロイドの単離とその不斉全合成、誘導体合成、構造活性相関の検討を進め、記憶障害改善薬のリード分子となる化合物の創製を目的とする。

3. 研究の方法

本研究の遂行にあたり、下記の(1)~(4)を計画した。

(1) AChE 阻害作用を有する新規アルカロイドの徹底的追求。

これまでに化学的研究がほとんどなされていない植物を探求し、それら植物について含有アルカロイドの精査を行う。ヒカゲノカズラ科 *Lycopodium* 属植物である *Lycopodium*

squarrosom, *Lycopodium piscium*、ヒガンバナ科植物であるショウキズイセン (*Lycoris traubii*)、台湾ンオモト (*Crinum asiaticum ver. sinicum*) について新規アルカロイドの探索、構造決定、活性評価を行う。

(2) *Lycopodium* アルカロイド Cermizine 類の不斉全合成。

研究開始当初までに、光学活性な Citronellal (5) を原料とし、Ring-Closing Metathesis (RCM) を経て quinolizidine 骨格を持つ鍵中間体 8 の合成を完了している。この鍵中間体 8 を変換することにより Cermizine 類アルカロイド (9, 10, 11) の不斉全合成を試みる (Figure 2)。得られた合成中間体や各種誘導体を薬理活性評価に付し、構造活性相関研究を行う。

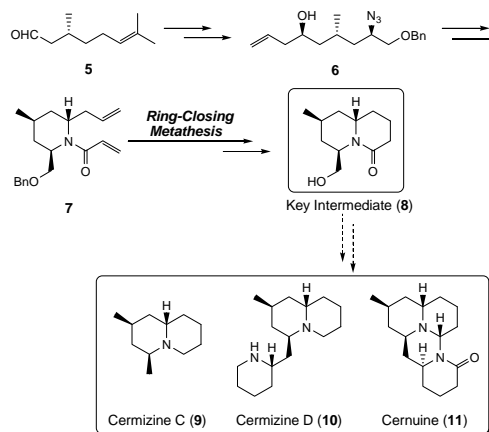


Figure 2.

(3) 新規 *Lycopodium* アルカロイド Lycoposerramine-V の不斉全合成。

新規アルカロイド Lycoposerramine-V (17) は、各種 NMR スペクトルの解析により平面構造を提出したが、立体配置は未定であった (Figure 3)。すなわち、NOE 解析により 7 位、15 位のプロトンは *cis* であると決定したが、5 位との相対配置も未定である。合成戦略は、光学活性な 12 を原料として Johnson-Claisen 転位を行い 7 位の側鎖を立体選択的に導入した後、Knoevenagel 反応によりテトラヒドロキノリン誘導体 15 へと変換する。その後、不斉アリル化により 5 位の不斉炭素を立体選択的に構築した後、Ring-Closing

Metathesis (RCM)を行い Lycoposerramine-V (17) の 2 種のジアステレオマーを合成する。合成品のデータを天然物と比較することにより、天然化合物の立体配置を決定する。さらに、これら中間体や誘導体についても薬理活性評価を行い、構造活性相関研究を行う。

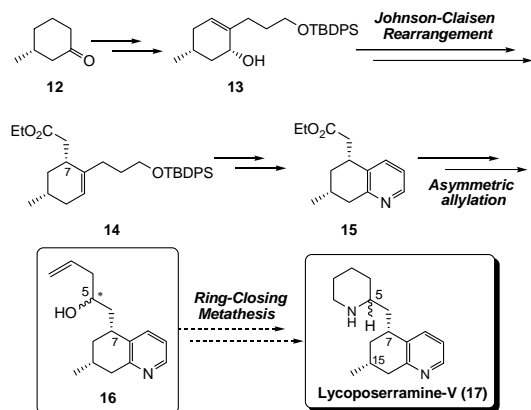


Figure 3.

(4) Pauson-Khand 反応を鍵反応とした新規アルカロイド Lycoposerramine-C の不斉合成。

当研究室で単離・構造決定した新規アルカロイド Lycoposerramine-C (22) は、強力な AChE 阻害活性を有する。そこで、誘導体の合成も視野に入れた収束的な合成ルートを確認する。研究開始当初までに、ヨードオレフィン 18 とアルキン 19 をカップリングすることにより、20 の合成を完了している (Figure 4)。鍵反応である Pauson-Khand 反応を経てシクロペンテノン 21 とし、窒素原子導入と 9 員環構築、続く変換により Lycoposerramine-C (22) を得る計画である。合成した中間体、各種誘導体について薬理活性評価を行い、構造活性相関の検討、さらなる誘導体の設計、合成を行う。

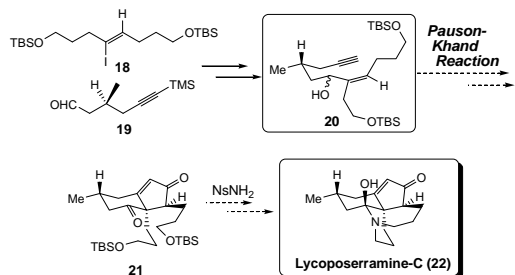


Figure 4.

4. 研究成果

(1) AChE 阻害作用を有する新規アルカロイドの徹底的追求。

ナツズイセン (*Lycoris squamigera*) の鱗茎部の成分探索を行い、新規アルカロイド 2 種 (23, 24) を単離し、各種スペクトル解析からその構造を決定した (Figure 5)。23 の不斉中心については改良 Mosher 法を用いて決定した (5. 発表論文①)。

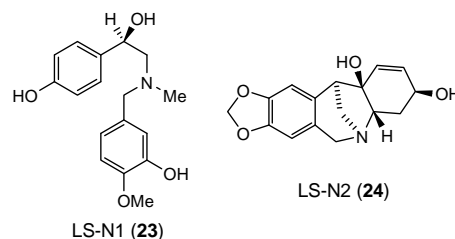


Figure 5.

また、ショウキズイセン (*Lycoris traubii*) の全草部の成分探索も実施し、新規アルカロイド 1 種 (25) を単離した (Figure 6)。新規アルカロイドの 3' 位の立体化学については、Lycorine (28) からの半合成により決定した。すなわち、市販されている S 体および R 体の methyl 3-hydroxybutyrate (26) の水酸基を TBS 保護後、加水分解してカルボン酸誘導体 27 を得た。続いて、Lycorine (28) の 2 位水酸基をアセチル保護した化合物と脱水縮合した後、MeOH 中濃塩酸を加え加熱することによりアセチル基の加水分解と TBS 基の脱保護が起こり、望みの化合物を得た。得られた合成品の NMR データを天然物のものと比較することにより、天然物の 3' 位の絶対立体配置を S 配置と決定した (5. 発表論文③)。

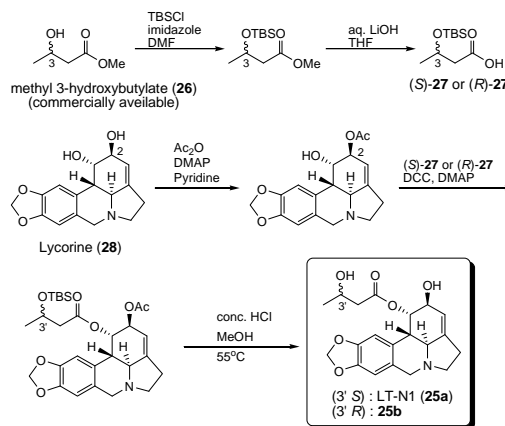


Figure 6.

Lycorine 誘導体について *in vivo* での抗マリアリア活性を評価したところ、LT-N1 (**25a**) は中程度の活性を示したものの、非天然型である 3' R 体(**25b**) では活性を示さなかった。今後は、各種誘導体合成と活性評価を行っていく予定である。

(2) *Lycopodium* アルカロイド Cermizine 類の不斉全合成。

光学活性な Citronellal (**5**) から 2 段階で得られるアルデヒド **29** に対して不斉アミノ化反応を行い、高ジアステレオ選択的にオキサゾリジノン **30** を得た。種々官能基変換の後、Ring-Closing Metathesis (RCM) を経て quinolizidine 骨格を持つ鍵中間体 **8** を得た (Figure 7)。

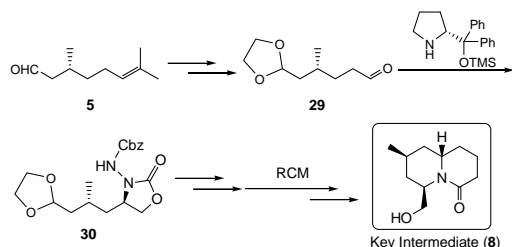


Figure 7.

共通中間体 **8** より、アミド基の還元、水酸基の Cl 化、 LiAlH_4 で Cl 基を除去し、Cermizine C (**9**) の全合成を達成した (Figure 8)。また、**9** を MCPBA にて酸化することにより Cermizine C N-oxide へと変換後、さらに TFAA で処理することにより位置選択的に Polonovsky 反応が進行し、Senepodine G (**31**) の合成に成功した。

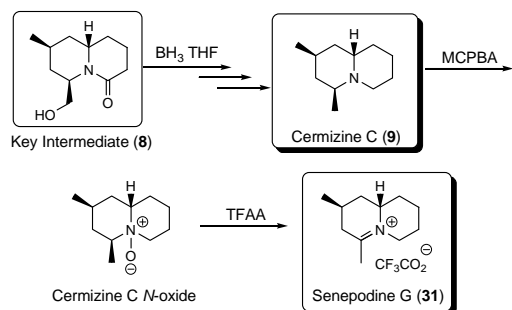


Figure 8.

さらに **8** の水酸基を IBX 酸化後、Wittig 反応、続く加水分解により 1 炭素増炭し **32** と

した (Figure 9)。Transfer aminoallylation を用いることにより立体選択的にアリル基を導入し、**33** を得た。続いて TiCl_4 を用いてアミジンとした後、還元を行うことで **34** とした。**34** から、アクリロイル化、RCM、接触還元により Cernuine (**11**) の初の全合成に成功した。

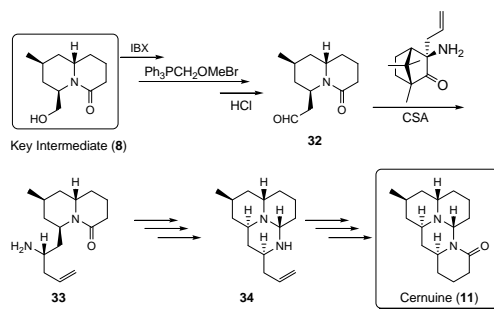


Figure 9.

また、**33** よりアクリロイル化、RCM、接触還元を経て **35** とした後、2つのアミド基を還元することで Cermizine-D (**10**) を合成した (Figure 10)。

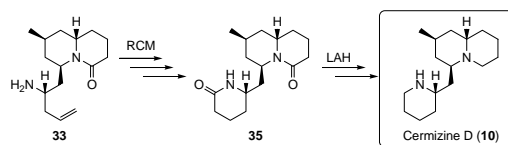


Figure 10.

Lycopodium アルカロイドの構造は合成化学的にも魅力的であり、2007 年以降に限っても 10 例以上の全合成の報告がなされていることから注目の高さがうかがえる。中でも、Cernuine (**11**) に関しては初の全合成であること、また多くのアルカロイドを合成可能な効率的な全合成であることから、合成化学界に与えたインパクトは大きい (5. 発表論文②)。

(3) 新規 *Lycopodium* アルカロイド Lycoposerramine-V の不斉全合成。

光学活性な **12** を原料とし、ケトンの α - β 位に二重結合を導入後、 α 位にヨウ素を導入して **36** とした。別途合成した allyl alcohol 誘導体 **37** と Suzuki-Miyaura coupling 後、ケトンを立体選択的に Luche 還元して **13** を得

た(Figure 11)。Johnson - Claisen 転位を行い 7 位の側鎖を立体選択的に導入した後、オレフィンのヒドロホウ素化-酸化と官能基変換によりケト-アルデヒド体 **38** とした。続いて Knoevenagel 反応により tetrahydroquinoline 誘導体 **15** へと変換した。

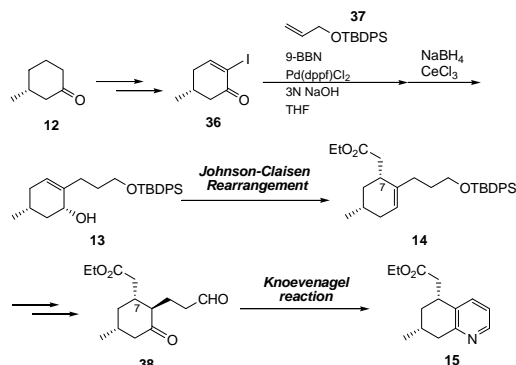


Figure 11.

その後、**15** のエステルをアルデヒドへと変換し、不斉アリル化の検討を行った。その結果、不斉配位子として *Ipc* (Isopinocampheyl) を用いた Brown の不斉アリル化を行うことにより、5 位の立体化学の異なる 2 種のジアステレオマー **16a**, **16b** を立体選択的に合成した(Figure 12)。続いて、それぞれのジアステレオマーに対してアジドの導入、Staudinger 反応、アクリロイル化を行って **41a**, **41b** とした。**41a** について X 線結晶解析を行い、不斉中心の絶対立体配置は **5S**, **7R**, **15R** と確認した。

続いて、RCM、オレフィンとアミドの還元を行い、Lycoposerramine-V (**17**) の 2 種のジアステレオマーを合成した。合成した 2 種のジアステレオマーのスペクトルデータを天然物のデータと比較することにより、天然物の絶対立体配置を **5S**, **7R**, **15R** と決定した。

さらに、Lycoposerramine-V (**17**) の *N*_a-methyl-3-hydroxy 体に相当する新規アルカロイド、Lycoposerramine-W (**42**) についてもその絶対立体化学を証明するため、合成研究を行った(Figure 13)。¹H-NMR において、Lycoposerramine-W (**42**) の 3 位プロトンが小さな結合定数を示すことから、3 位水酸基は axial 配置をとっていると考えられ、3 位と 5 位の相対立体化学は *trans* 配置であると推察した。そこで、**3S**, **5R**, **7R**, **15R** 配置を有

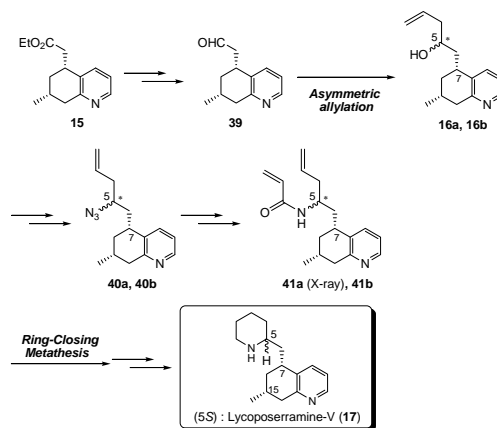


Figure 12.

する化合物を合成することとした。

Lycoposerramine-V (**17**) 合成におけるアジド中間体 **40a** より、Staudinger 反応後、2 段階で *N*-methyl 化した(Figure 13)。2 級アミンをクロロアセチル化した後、末端オレフィンを Lemieux- Johnson 酸化してアルデヒド **44a** へ導いた。**44a** に対して *Sml*₂ を用いた分子内 Reformatsky 反応を行い、高ジアステレオ選択的に **46a** を得た。最後にアミド基を還元することにより目的の化合物を得た。各種スペクトルデータを天然物と比較したところ、良い一致を示したため、Lycoposerramine-W (**42**) の絶対立体配置を **3S**, **5R**, **7R**, **15R** と決定した (5. 発表論文④)。

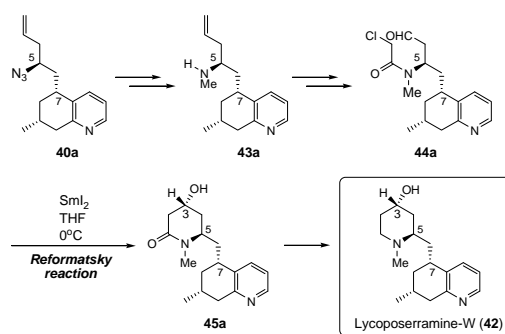


Figure 13.

本合成ルートは、Phlegmarine 型アルカロイドや Huperzine-H などの合成にも適用可能であり、非常に有用な合成法を確立したと言える。また、Lycoposerramine-V, W は、当研究室で単離した新規アルカロイドであり、それらを自らの手で全合成を達成したことは、

非常に意義が大きいと言える。

今後、合成中間体や誘導体について薬理活性評価を行い、構造活性相関研究を行う予定である。

(4) Pauson-Khand 反応を鍵反応とした新規アルカロイド **Lycoposerramine-C** の不斉全合成。

ヨードオレフィン **18** とアルキン **19** をカップリングして得た環化前駆体 **20** について、鍵反応である Pauson-Khand 反応の検討を行った[3. 研究方法(4) 参照]。しかし、2 置換オレフィンにおける Pauson-Khand 反応は報告例が少ないこともあり、種々条件検討を行ったが目的とするシクロペンテノンを得ることはできなかった。そこで、より反応性の高い末端オレフィンを有する基質を用いて Pauson-Khand 反応を検討することとした。

下記のように合成した基質 **49** を用いて検討したところ、目的とするシクロペンテノンを収率 90%で得ることができた(Figure 14)。

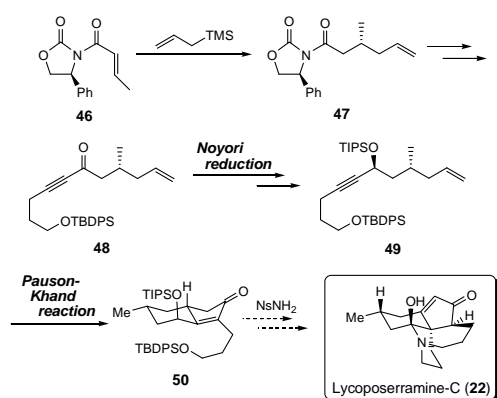


Figure 14.

今後、窒素原子導入と 9 員環の構築、続く変換により **Lycoposerramine-C (22)** 全合成を達成する予定である。さらに合成した中間体、各種誘導体について薬理活性評価を行い、構造活性相関の検討、さらなる誘導体の設計、合成を行う予定である。

5. 主な発表論文等 〔雑誌論文〕(計 4 件)

- ① M. Kitajima, E. Kinoshita, N. Kogure, and H. Takayama ; Two New Alkaloids from Bulbs

of *Lycoris squamigera*. ; *Heterocycles*, **77** (2), 1389-1396 (2009). 査読有

- ② Y. Nishikawa, M. Kitajima, N. Kogure, H. Takayama ; A divergent approach for the total syntheses of cernuane-type and quinolizidine-type *Lycopodium* alkaloids ; *Tetrahedron*, **65**, 1608-1617 (2009). ; 査読有
- ③ Y. Toriizuka, E. Kinoshita, N. Kogure, M. Kitajima, A. Ishiyama, K. Otoguro, H. Yamada, S. Omura, and H. Takayama ; New Lycorine-type Alkaloid from *Lycoris traubii* and Evaluation of Anti-trypansomal and Antimalarial Activities of Lycorine Derivatives. ; *Bioorg. Med. Chem.*, **16** (24), 10182- 10189 (2008). ; 査読有
- ④ T. Shigeyama, K. Katakawa, N. Kogure, M. Kitajima, and H. Takayama ; Asymmetric Total Syntheses of Two Phlegmarine-Type Alkaloids, Lycoposerramines-V and -W, Newly Isolated from *Lycopodium serratum*. ; *Org. Lett.*, **9** (20), 4069-4072 (2007). ; 査読有

〔学会発表〕(計 4 件)

- ① 中山淳、小暮紀行、北島満里子、高山廣光 ; 新規 *Lycopodium* アルカロイド **Lycoposerramine-C** の不斉全合成研究 ; 第 129 回日本薬学会年会 ; 2009 年 3 月 28 日 ; 京都国際会議場
- ② 田中智之、重山貴秀、小暮紀行、北島満里子、高山廣光 ; 新規リコポジウムアルカロイド **Lycoposerramine-X** および **Z** の不斉全合成研究 ; 第 28 回メディシナルケミストリーシンポジウム ; 2008 年 11 月 26 日 ; 東京大学 安田講堂
- ③ 重山貴秀、片川和明、小暮紀行、北島満里子、高山廣光 ; 新規 Phlegmarine 型リコポジウムアルカロイド **Lycoposerramine-V** および **W** の不斉全合成 ; 第 92 回有機合成シンポジウム ; 2007 年 11 月 8 日 ; 早稲田大学国際会議場
- ④ 鳥居塚洋輔、木下恵理、小暮紀行、北島満里子、高山廣光 ; ヒガンバナ科植物 *Lycoris traubii* 由来新規 Lycorine 誘導体の構造決定 ; 日本生薬学会第 54 回年会 2007 年 9 月 14 日 ; 愛知学院大学

〔その他〕

ホームページ :

<http://www.p.chiba-u.ac.jp/lab/seitai/>

6. 研究代表者

小暮 紀行 (Noriyuki Kogure) 80396689
千葉大学・大学院薬学研究院・助教