

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590132

研究課題名(和文) コンプレックス I 選択的阻害剤ナフレジン $\gamma$  の第二次構造活性相関研究研究課題名(英文) Structure- activity relationship study of nafuredin- $\gamma$  derivatives as complex I selective inhibitors

研究代表者

有馬 志保 (Arima, Shiho)

北里大学・薬学部・助教

研究者番号：20276158

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000 円、(間接経費) 1,230,000 円

研究成果の概要(和文)：寄生虫のcomplex I選択的阻害剤であるnafuredin- $\gamma$  は、動物実験においても優れた結果を示し、新たな作用機作を有する新規抗寄生虫薬としての開発が期待されている。しかしながらnafuredin- $\gamma$  は、側鎖ジエン部分が物理化学的に不安定であることより実用化は困難な状況である。そこでこの問題を解決すべく安定性向上を指向した新規nafuredin- $\gamma$  誘導体を数種設計し合成を行った。

研究成果の概要(英文)：Nafuredin- $\gamma$ , converted from nafuredin as a fungal metabolite under mild basic conditions, demonstrates inhibitory activity and selectivity against complex I of *Ascaris suum*. These compounds have unique and useful biological activities; however, the conjugated diene moieties included in the structure are highly unstable in the presence of oxygen. To solved this problem, stable nafuredin- $\gamma$  derivatives with non-conjugated (E)-olefins in the side chain moiety designed and synthesized. These derivatives showed moderate complex I inhibitory activities and high stabilities in air.

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：医薬品化学 構造活性相関

### 1. 研究開始当初の背景

寄生虫症は感染者数が延べ 40 億人以上と世界で最も多い疾患であり寄生虫症による死者は世界中で 300 万人近いと言われている。一方、日本における寄生虫症は第二次世界大戦以降の衛生環境の改善により激減したが、近年になってペットを介した人畜共通の回虫症や輸入野菜、輸入豚による有鉤条虫症等の感染者数が増加してきている現状である。さらに現在使用されている抗寄生虫薬に対する耐性種の出現が見られ、その数は増加傾向にある。このように寄生虫症対策は衛生環境が改善されていない発展途上国のみならず、近年地球温暖化に伴い寄生虫症が増加傾向にある先進国においても重要な課題となっている。そこで従来とは異なる作用機作を有する抗寄生虫薬の開発が急務であるとされている。このような背景の下、北里研究所において微生物培養液を対象に電子電達系の一部を担う NADH-fumarate reductase (NFRD) 阻害物質の探索が行われ、nafuredin が発見された (*J. Antibiot.* **2001**, *54*, 234-238.)。Nafuredin は、寄生虫の complex I を選択的かつ強力に阻害し ( $IC_{50} = 12.0$  nM) またヒツジに対する捻転胃中感染治療実験において 2 mg/kg の経口投与で著効を示し、毒性も認められないことが明らかとなっている (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2001**, *98*, 60-62) また、著者の所属する研究室では nafuredin の初の全合成が達成され、その過程で、nafuredin は、弱塩基処理することで nafuredin- $\gamma$  に変換され、この nafuredin- $\gamma$  は nafuredin と同等の活性を有することを見出している (*Tetrahedron Lett.* **2001**, *58*, 50-55, *Org. Lett.* **2001**, *3*, 2289-2291) (Fig. 1)。以上の結果より nafuredin 及び nafuredin- $\gamma$  は、新たな作用機作を有する抗寄生虫薬としての開発が期待される。しかしながら、物理化学的な安定性や種々の誘導化が困難である等、実用化に向けて幾つかの問題点が存在する。

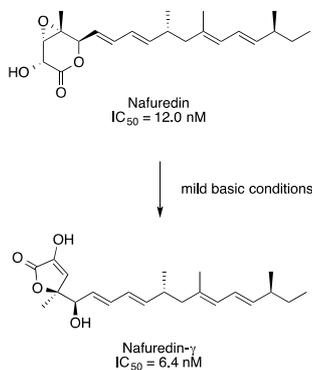


Fig.1 Structures of nafuredin and nafuredin- $\gamma$  and its NFRD inhibitory activity against *Ascaris suum*.

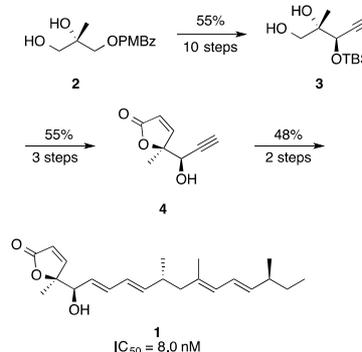
### 2. 研究の目的

前述の通り、nafuredin 及び nafuredin- $\gamma$  は、新規抗寄生虫薬として期待されているが、物

理化学的な安定性に問題がある。それはその構造中の側鎖ジエン部分が空気酸化を受けやすいことに起因すると考えられ、nafuredin- $\gamma$  並びにこれまでに合成した誘導体は、溶液中では安定なもの、固体で保存すると化合物の分解を生じてしまうことより、溶液保存が必須であった。そこで著者は、現在までに得られている構造活性相関の知見を基にし、安定性向上を目指して側鎖部を変換した新規誘導体の合成を進めることとした。さらに nafuredin- $\gamma$  を基盤とした新規 complex I 選択的阻害剤の実用化に向けラクトン部分の簡素化を進め、より合成容易な nafuredin- $\gamma$  誘導体を創製し動物実験に供するために種々の有機化学的アプローチを進めていくことも目的としている。

### 3. 研究の方法

著者の所属する研究室では、確立されている nafuredin- $\gamma$  の合成経路を応用してラクトン部分のヒドロキシ基を除去した誘導体 1 が合成され、その NFRD 阻害活性評価が実施された結果、nafuredin- $\gamma$  と同等の活性を有することをすでに報告している (*Tetrahedron* **2008**, *64*, 8117-8127) (Scheme 1)。



Scheme 1. Total synthesis of nafuredin- $\gamma$  derivative 1

そこでまず、誘導体 1 よりも簡便に合成可能な  $\alpha, \beta$ -不飽和ラクトン誘導体 5 を設計・合成し、寄生虫に対する NFRD 阻害活性評価を行う。その結果、誘導体 1 が、nafuredin- $\gamma$  と同等の NFRD 阻害活性が認められれば、次に側鎖部分の安定性向上を目指し、ラクトン部分はヒドロキシ基を除去した  $\alpha, \beta$ -不飽和ラクトンとし、側鎖部のジエン部分をジエンと同じ  $sp^2$  炭素を有するベンゼン環とナフタレン環に変換した新規誘導体 6 とジエン部分をモノエンへと変換した新規誘導体 7 を合成し、NFRD 阻害活性評価を行う。その後、それらの知見を基に更なる構造活性相関研究を進め、動物実験への量的供給を目指し、合成がより容易で大量供給が可能な新規 nafuredin- $\gamma$  誘導体の創製を行う。

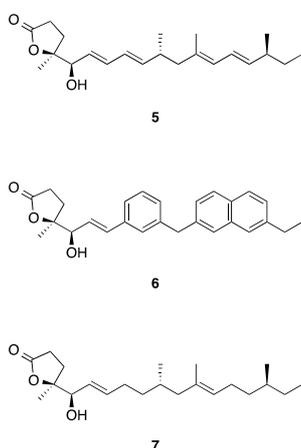
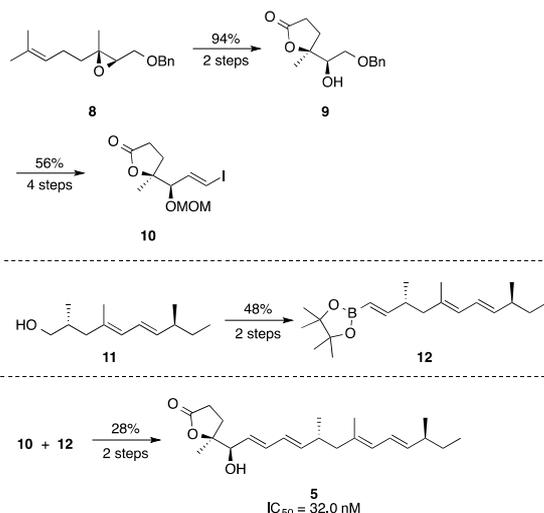


Fig.2 Structures of new nafuredin- $\gamma$  derivatives 5, 6 and 7

#### 4. 研究成果

(1) まず始めに、ラクトン部分の更なる簡素化の為に $\alpha,\beta$ -不飽和ラクトン部分を飽和ラクトンに変換した誘導体 5 の合成を行った。既知化合物 8 ( *Tetrahedron Lett.* **2001**, 57, 8173-8180 ) から 6 工程を経て導いたビニルヨージド 10 と既知アルコール 11 ( *Org. Lett.* **2001**, 3, 2289-2291 ) より導かれたボロナート 12 との鈴木カップリング、続く MOM 基の脱保護を行うことで誘導体 5 を得ることが出来た (Scheme 2)。

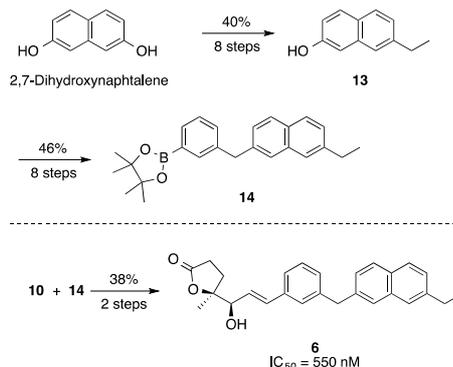


Scheme 2. Synthesis of nafuredin- $\gamma$  derivative 5

合成した誘導体 5 の寄生虫に対する NFRD 阻害活性評価を行った。その結果、誘導体 5 の  $IC_{50}$  は 32.0 nM であり nafuredin- $\gamma$  と比較して同等の阻害活性を示し、NFRD 阻害活性発現にはラクトン部よりも側鎖部における炭素鎖が重要であり、ラクトン部の更なる簡素化が可能であることが示唆された。

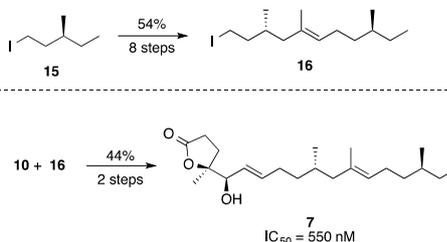
(2) 上述の結果を受け、次にラクトン部分はヒドロキシ基を除去した飽和ラクトンとし、側鎖部分の安定性向上を目指し、側鎖部のジエン部分をジエンと同じ  $sp^2$  炭素を有するベンゼン環とナフタレン環に変換した新規誘

導体 6 の合成を行った。すなわち、市販の 2,7-ジヒドロキシナフトールより 8 工程でナフトール 13 とした後、種々官能基変換を行いボロナート 14 とした。誘導体 5 の合成中間体であるビニルヨージド 10 とボロナート 14 との鈴木カップリングの後、MOM 基の脱保護を行うことで誘導体 6 を合成した。(Scheme 3)。



Scheme 3. Synthesis of nafuredin- $\gamma$  derivative 6

次いで、ジエン部分をモノエンへと変換した新規誘導体 7 を市販の 15 より 8 工程を経て導いた 16 とビニルヨージド 10 との *B*-アルキル鈴木カップリングを経て合成した (Scheme 4)。



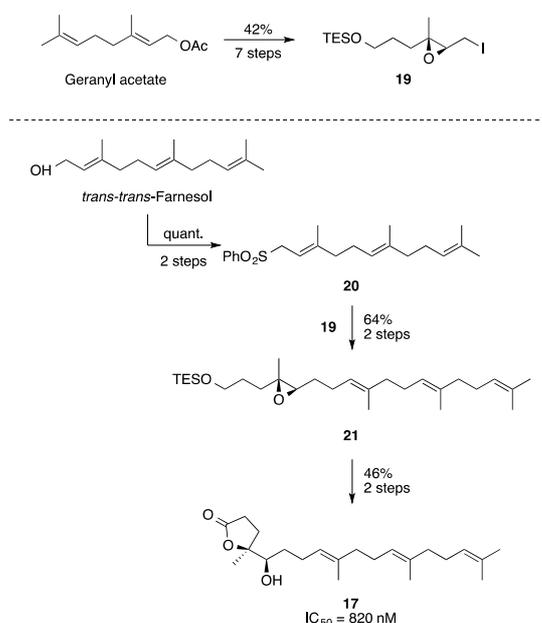
Scheme 4. Synthesis of nafuredin- $\gamma$  derivative 7

合成した新規誘導体 6 及び 7 の寄生虫に対する NFRD 阻害活性評価を行った。その結果、6 及び 7 の  $IC_{50}$  は、ともに 550 nM と nafuredin- $\gamma$  と比較して低下する結果となった。しかしながら、いずれも nM レベルで阻害活性を維持することが明らかとなり、さらにこれらの新規誘導体 6 及び 7 は、濃縮後長期保存をしても空気酸化による分解が起こらず、物理化学的安定性の大幅な向上が認められた。

(3) 上述の結果より誘導体 7 が物理化学的に安定であり NFRD 阻害活性を維持することが明らかとなったので、次により簡便に合成可能であると考えられる新規誘導体 17 とその合成中間体より導くことの出来るラクトン部分の簡素化された新規誘導体 18 の合成を行うこととした。

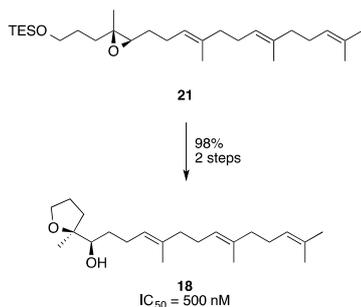
まず、市販の geranyl acetate を出発原料とし、7 工程を経てエポキシヨージド 19 へと導いた。続いて *trans-trans*-farnesol より導かれた 20 とエポキシヨージド 19 とのカップリングと還元的脱スルホン化を行い 21 とした。次いで、TES エーテルの直接的な酸化により

アルデヒドに導いた後、ラクTONの構築を行うことで目的の新規誘導体 **17** を得た (Scheme 5)。



Scheme 5. Synthesis of nafuredin- $\gamma$  derivative **17**

更に、新規誘導体 **17** の合成中間体であるエポキシド体 **21** の TES 基の脱保護、続く分子内環化によりテトラヒドロフラン環を構築して新規誘導体 **18** を得ることが出来た (Scheme 6)。



Scheme 6. Synthesis of nafuredin- $\gamma$  derivative **18**

合成した新規誘導体 **17** 及び **18** の寄生虫に対する NFRD 阻害活性評価を行った結果、 $IC_{50}$  はそれぞれ 820 nM と 500 nM であり、nafuredin- $\gamma$  と比較すると活性は低下する結果となった。しかしながら新規誘導体 **6** 及び **7** と同等の活性を示し、その安定性も同等であった。

以上の結果より著者は、nafuredin- $\gamma$  よりも NFRD 阻害活性は劣るものの側鎖部の安定性が格段に向上された新規誘導群の創製が成功するとともに、ラクTON部をテラヒドロフランへと更なる簡素化を行った新規誘導体 **17** においても NFRD 阻害活性が維持されるという新規知見を得ることが出来た。これらの結果を基に更なる構造活性相関研究を進

めることで優れた寄生虫 complex I 選択的誘導体を創製することが出来ると考えられる。

## 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)

[学会発表](計6件)

清水理紗(有馬志保)、Nafuredin- $\gamma$  の構造活性相関研究、日本薬学会第134年会、2014年3月29日、熊本市総合体育館(熊本)

有馬志保、安定性向上を指向した nafuredin- $\gamma$  の構造活性相関研究、第31回白金シンポジウム、2013年12月17日、北里大学白金キャンパス(東京)

清水理紗(有馬志保)、Nafuredin- $\gamma$  の構造活性相関研究、第8回北里化学シンポジウム、2013年12月14日、北里大学相模原キャンパス(神奈川)

清水理紗(有馬志保)、Nafuredin- $\gamma$  の構造活性相関研究、第31回メディスナルケミストリーシンポジウム、2013年11月21日、アステールプラザ(広島)

清水理紗(有馬志保)、Nafuredin- $\gamma$  の構造活性相関研究、第57回日本薬学会関東支部大会、2013年10月26日、帝京大学板橋キャンパス(東京)

清水理紗(有馬志保)、Nafuredin- $\gamma$  の構造活性相関研究、第30回メディスナルケミストリーシンポジウム、2012年11月29日、タワーホール船堀(東京)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

有馬 志保 (ARIMA SHIHO)

北里大学薬学部・大学院薬学研究科・助教

研究者番号：20276158