

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 6 月 12 日現在

機関番号：32067  
 研究種目：若手研究（B）  
 研究期間：2010～2012  
 課題番号：23790140  
 研究課題名（和文） Complex 2 選択的阻害剤 atpenin A5 を基盤とする新規抗寄生虫薬の創製  
 研究課題名（英文） Structure-activity relationship of atpenin A5 derivatives as complex II selective inhibitors  
 研究代表者  
 大多和 正樹（OHTAWA MASAKI）  
 北里大学・薬学部・助教  
 研究者番号：70453503

研究成果の概要（和文）：Complex II 選択的阻害剤 atpenin A5 の更なる詳細な構造活性相関研究を行い新規抗寄生虫薬の創製を目指した。いずれの新規誘導体も著者らが確立した atpenin A5 の全合成経路を応用する事で、効率的に種々の誘導体合成を行うことができた。今回明らかとした側鎖部の詳細な構造活性相関は、今後の更なる新規誘導体の設計における重要な知見となり、atpenin A5 を基盤とした新規抗寄生虫薬創製へ向けた重要な基礎を構築することができた。

研究成果の概要（英文）：Structure-activity relationship of atpenin A5 focused on 2-position and substituents of the side chain has been achieved. On this study, the importance of stereochemistry and the presence of each methyl and chloro groups on the side chain were elucidated.

## 交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	2,700,000	810,000	3,510,000

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：構造活性相関、complex II、天然有機化合物

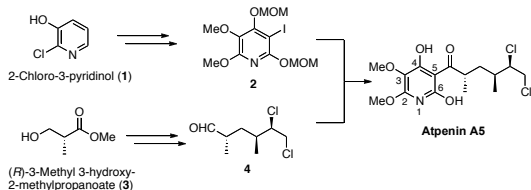
## 1. 研究開始当初の背景

寄生虫症は感染者数が延べ 40 億人以上と世界で最も患者数の多い疾患であり、最近では寄生虫症による死者は世界中で 300 万人近いと言われる。しかし近年、現在用いられている抗寄生虫薬の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代表的な寄生虫症であるマラリア等が蔓延している発展途上国のみならず、近年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になっている。そこで従来とは異なる作用機序を有し、耐性種にも有効な抗寄生虫薬の開発は急務と言える。

寄生虫は哺乳類とは異なる嫌気的な電子伝達経路を有するため、これを特異的に阻害する物質は、選択性の高い抗寄生虫薬となり

得る可能性を有する。そこで北里大学北里生命科学研究所において、微生物培養液を対象に電子伝達経路の一部を担う complex II 阻害物質の探索が行われた。その結果、以前同研究所で他の生理活性を有する物質として単離、同定されていた atpenin A5 (*J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1553. **Scheme 1**) が強力な寄生虫 complex II 阻害活性を有することが明らかとなった ( $IC_{50}$ : 0.012  $\mu$ M)。しかし atpenin A5 は哺乳類 complex II にも阻害活性を示し種選択性が低かったものの、その強力な complex II 阻害活性は様々な分野の多くの研究者により利用されており、現在までに atpenin A5 と大腸菌 complex II との結合様式も解明されている (*J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 7309.)。更にブタ回虫 complex II の構造解析および atpenin

A5 との共結晶 X 線構造解析が行われており (研究協力: 東大、京都工繊大)、atpenin A5 は今後の新規抗寄生虫薬としてのリード化合物としてのみならず、寄生虫/哺乳類 complex II 選択性を議論するうえでの重要な生化学的ケミカルツールとしても重視されている。しかしながら低生産性のため培養による atpenin A5 の供給は現在のところ容易ではない (*J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1553.)。そこで申請者はそのような問題を解決すべく atpenin A5 の全合成研究に着手し、その初のエナンチオ選択的全合成を達成し atpenin A5 の化学的大量供給を可能とし (Ohtawa, M. *et al. J. Antibiot.*, **2009**, *62*, 289., **Scheme 1**)、現在申請者らにより合成した atpenin A5 が BioLinks 社より市販されている。Atpenin A5 の全合成は対応するテトラアルコキシピリジン **2** と側鎖アルデヒド **4** を個々に合成しカップリングするコンバージェントな合成法を用いており、それぞれの部位を適宜構築しカップリングすることで、後述の多様な誘導体を効率よく合成することが可能である。また本法を応用することで atpenin 類縁体 (atpenin A4, B, harzianopyridone, NBRI23477B) の全合成も達成している。



**Scheme 1.** Total synthesis of atpenin A5

## 2. 研究の目的

前述の通り atpenin A5 の抱える問題点として、哺乳類と寄生虫との選択性の低さが挙げられる。よって本研究は新規抗寄生虫薬の創製を目指す上で活性の上昇を目的とするのみならず、選択性の向上が大きな目標である。そこで atpenin A5 を基盤とした寄生虫選択的 complex II 阻害剤を目的とし、申請者は atpenin A5 の有する種々の置換基を網羅的に変換した誘導体を合成し、構造活性相関研究を進める必要がある。現在までの成果として、多くの atpenin 誘導体においてその活性が大きく低下したものの、寄生虫 complex II の基質となる rhodoquinone (ubiquinone の 2 位がアミノ基に置換) を模倣し、atpenin A5 の 2 位にアミノ基を有する誘導体が、活性はやや低下したものの atpenin A5 を超える寄生虫選択性を示す事が明らかとなった。このことから、活性中心である quinone 部 (atpenin ではピリジン部 2 位に相当) に寄生虫選択性向上の鍵が存在する事が示唆された。一方また側鎖を変換していく上で、Me 基と Cl 基の存在と立体化学の重要性を明らかにすることが必須であり、その結果から変換可能な部位を特定し

構造活性相関を進める必要がある。従って対応する誘導体の設計合成を行う必要がある。これらの研究を進め、更なる優れた誘導体の設計合成を繰り返し、atpenin A5 をリードとした実用的な寄生虫 complex II 選択的阻害剤 (新規抗寄生虫薬) の創製を最終目標としている。

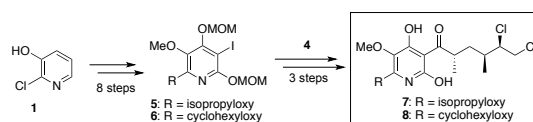
## 3. 研究の方法

Atpenin A5 をリード化合物とした寄生虫 complex II 選択的阻害剤 (新規抗寄生虫薬) 創製を目的に、ピリジン環 2 位の変換、ならびに側鎖部の詳細な構造活性相関研究を行う。前者は、2 位に種々の性質を有する置換基を導入した atpenin A5 誘導体を種々合成し活性を評価する。後者については、側鎖 Me 基と Cl 基を除いた誘導体群、ならびに立体化学をそれぞれ反転させた誘導体群を合成し、その活性評価を行うこととした。

## 4. 研究成果

Atpenin A5 をリード化合物とした寄生虫 complex II 選択的阻害剤 (新規抗寄生虫薬) 創製のために、2 つの方向性 (atpenin A5 の 2 位の構造活性相関、atpenin A5 の側鎖部の構造活性相関研究) で研究を進めた。

【1】 まずはじめに atpenin A5 の 2 位の構造活性相関として、2 位に立体的に環境が異なるイソプロピルオキシ基ならびにシクロヘキシルオキシ基を導入した新規誘導体の合成を行った。いずれの誘導体も atpenin A5 の全合成経路を踏襲し、市販の 2-クロロ-3-ピリジノール (**1**) を出発原料とし、芳香族求核置換反応による 2 位へのイソプロピルオキシ基ならびにシクロヘキシルオキシ基の導入等を経て、11 工程で全合成を達成した (**Scheme 2**)。



**Scheme 2.** Total synthesis of 2-modified atpenin A5 derivatives

合成した **7** と **8** の complex II 阻害活性を評価したところ、atpenin A5 と比べ大きくその活性が低下した。従って、2 位を変換することでは活性の維持が困難であることが予想されたため、2 位を変換した誘導体の合成は一時保留とした。

【2】 続いて atpenin A5 の側鎖部の構造活性相関研究を行った。まず側鎖 Cl 基と Me 基を除去した誘導体群 **9-13** の合成を行った。いずれも atpenin A5 の全合成経路を踏襲し、効率よく合成を達成した (**Figure 1**)。

合成した誘導体 **9-13** の complex II 阻害活性を評価したところ、いずれの誘導体も atpenin

A5 と比べ大きく活性が低下した。その結果側鎖 Cl 基と Me 基の存在は complex II 阻害活性発現に必須であることが明らかとなった。

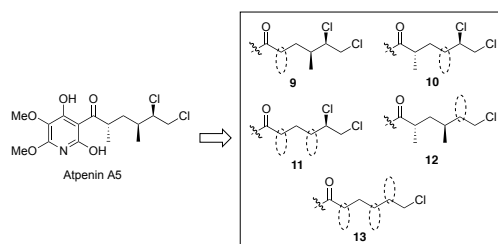
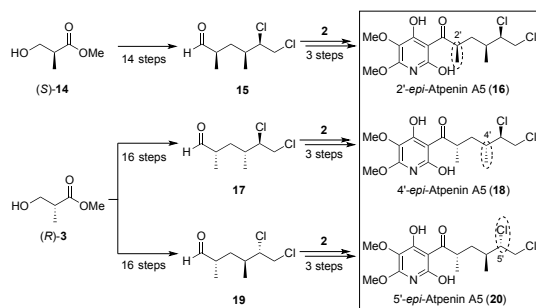


Figure 1. Design of side chain truncated analogs of atpenin A5

続いて側鎖置換基の立体配置による活性への影響を精査するため、2', 4', 5'位の立体配置をそれぞれ反転させた新規誘導体 **16**, **18**, **20** をそれぞれ設計した。これらの誘導体も全合成経路を踏襲し、出発原料に **3** と **14** を用い、適宜 2 級ヒドロキシ基の光延反応による反転を経て合成した (Scheme 3)。



Scheme 3. Total synthesis of atpenin A5 stereoisomers

合成した立体異性体 **16**, **18**, **20** の complex II 阻害活性を評価したところ、2'位の立体配置を反転させた **16** の活性は大幅に低下した。一方、4'位を反転させた **18** は atpenin A5 よりも若干高い阻害活性を、5'位を反転させた **20** は atpenin A よりも若干低い阻害活性を示した。このことより、2'位の立体配置は S 配置であることが活性発現に必須であると考えられ、4'位、5'位に関しては阻害活性に対する影響は少ないものの、4'R, 5'R が最適であることが示唆された。

以上のように申請者が確立した atpenin A5 の全合成経路を応用し、atpenin A5 の構造活性相関研究を行った。Atpenin A5 側鎖の詳細の構造活性相関により、現在まで不明であった置換基の有無とその立体化学の重要な知見を得ることができた。今後は側鎖の立体配置を 2'S, 4'R, 5'R に固定し、Me 基や Cl 基を他の官能基に変換した新規誘導体を合成し、更なる構造活性相関研究を進めたいと考えている。

## 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)

[雑誌論文] (計 3 件)

(1) Odani, A.; Ishihara, K.; Ohtawa, M.; Tomoda, H.; Omura, S.; Nagamitsu, T. Total synthesis of pyripyropene A. 査読有, *Tetrahedron*, **2011**, *67*, 8195-8203.

DOI: 10.1016/j.tet.2011.06.084

(2) Kaneko, M.; Matsuda, D.; Ohtawa, M.; Fukuda, T.; Nagamitsu, T.; Yamori, T.; Tomoda, H. Potentiation of bleomycin in Jurket cells by fungal pycnidion. 査読有, *Biol. Pharm. Bull.*, **2012**, *35*, 18-28.

DOI: 10.1248/bpb.35.18

(3) Ohtawa, M.; Sugiyama, K.; Hiura, T.; Izawa, S.; Shiomi, K.; Omura, S.; Nagamitsu, T. Stereoselective total synthesis of atpenin A4 and B, harzianopyridone, and NBRI23477 B. 査読有, *Chem. Pharm. Bull.*, **2012**, *60*, 898-906.

DOI: 10.1248/cpb.c12-00266

[学会発表] (計 3 件)

① 樋浦徹 (大多和正樹)、Atpenin A5 の構造活性相関研究、第 55 回 日本薬学会関東支部大会、2011 年 10 月 8 日、東邦大学習志野キャンパス (千葉)

② 樋浦徹 (大多和正樹)、Atpenin A5 の構造活性相関研究、日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 28-31 日、北海道大学札幌キャンパス (北海道)

③ 宮尾篤欣 (大多和正樹)、Atpenin A5 の構造活性相関研究、第 30 回メディシナルケミストリーシンポジウム、2012 年 11 月 28-30 日、タワーホール船堀 (東京)

[産業財産権]

○出願状況 (計 2 件)

名称: ACAT2 阻害活性を示す代謝酵素に安定なピリピロペン誘導体

発明者: 供田洋、長光亨、松田大介、大城太一、大多和正樹、大村智、

権利者: 同上

種類: 特許

番号: PCT/2011/057336

出願年月日: 2011 年 3 月 25 日

国内外の別: 国内外

名称: ACAT2 阻害活性を示すピリピロペン A 構造簡略型誘導体

発明者: 大多和正樹、大村智、供田洋、長光亨

権利者: 同上

種類: 特許

番号：特願 2013-012868  
出願年月日：2013 年 1 月 28 日  
国内外の別：国内

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大多和 正樹 (OHTAWA MASAKI)  
北里大学・大学院薬学研究科・助教  
研究者番号：70453503