

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：12501

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460005

研究課題名(和文) 記憶障害改善薬リード化合物創製を目的とするリコポジウムアルカロイドの探索と全合成

研究課題名(英文) Isolation and synthetic studies on Lycopodium alkaloids towards the remedy for Alzheimer disease

研究代表者

小暮 紀行 (Kogure, Noriyuki)

千葉大学・薬学研究科(研究院)・助教

研究者番号：80396689

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：高齢化社会となった現在、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。ヒカゲノカズラ科リコポジウム属植物に含有されるアルカロイド(含窒素化合物)には、アセチルコリンエステラーゼという酵素を阻害することにより、記憶障害を改善できることが報告されている。

本研究では、リコポジウム属植物からのアルカロイドの単離・構造決定と化学合成により、記憶障害改善作用をもつ有用なアルカロイドを見出すことを目的とした。その結果、数多くの新規アルカロイドを単離・構造決定するとともに、数種のアルカロイドの効率的な全合成を達成した。

研究成果の概要(英文)：Because of the aging society, the discovery of new remedies for memory disorder (or Alzheimer disease) is urgent business in Japan. Some Lycopodium alkaloids are known to have acetylcholine esterase (AChE) inhibitory activity. This research was aimed for the discovery of Lycopodium alkaloids which have strong activity against AChE by separation from Lycopodium plants and total synthesis from commercially available reagents.

As a result, we have isolated many Lycopodium alkaloids from *L. carinata* and *L. nummulariformis*, distributed in Thailand, and elucidated their structures by spectroscopic analyses and chemical conversions. Furthermore, we have achieved the total syntheses of natural Lycopodium alkaloids utilizing our original strategy. The shortest total synthesis of lycodine was accomplished by a strategy featuring the one-pot construction of a tetra cyclic lycodine skeleton from a linear precursor, which was inspired by the biosynthetic consideration of Lycopodium alkaloids.

研究分野：天然物化学

キーワード：アルカロイド リコポジウム 構造決定 不斉全合成

1. 研究開始当初の背景

アセチルコリンエステラーゼ阻害作用を作用機序とする認知症治療薬として、アリセプト(ドネペジル)が国内で初めて実用化された。その後、同じ作用機序を有する植物由来アルカロイドとして、リコポジウムアルカロイドのフベルジン A、ヒガンバナアルカロイドのガランタミン、フィゾスチグミン誘導体を対象とした臨床研究が進められ、ガランタミンとリバスチグミンが 2011 年に実用化された。これにより、認知症治療薬の選択肢は増えたが、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。また、アルツハイマー病の原因と考えられる老人斑の形成に關与するセクレターゼを阻害する分子の探索が活発に行われているが、有用なシード分子の発見には至っていない。

本申請者の研究室では、リコポジウム属植物含有アルカロイドの化学的研究を精力的に行っており、これまでに新規 30 種以上を含む 60 種以上のアルカロイドを単離・構造決定し、それらアルカロイドの合成研究と活性評価を行ってきた。また最近、我々以外の研究グループからも新規リコポジウムアルカロイドの単離および合成研究の報告が数多くなされており、リコポジウム属植物は、新しい生物活性天然物の探索素材として有用性が極めて高い。2012 年に限っても 10 報の合成研究と 5 報の成分探索研究が報告されていることから、その重要性がうかがえる。

2. 研究の目的

本研究では、ヒカゲノカズラ科リコポジウム属植物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、その不斉合成と新規アルカロイドの単離、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。

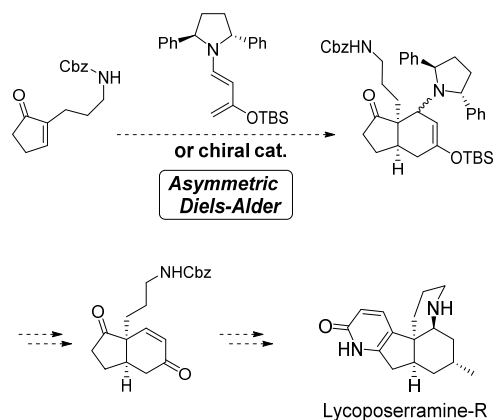
3. 研究の方法

以下の(1)~(5)を実施する。

(1) 不斉 Diels-Alder 反応を鍵反応としたリコポセラミン R の不斉合成。

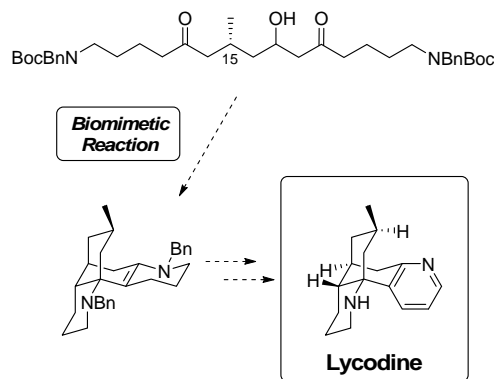
すでに当研究室でラセミ体全合成を達成しているリコポセラミン R について、不斉 Diels-Alder 反応を用いることにより不斉合成へ展開する。Rawal らが報告している不斉補助基を有するアミノシロキシエン、またはサレン触媒を用いた Diels-Alder 反応を検討することにより、リコポセラミン R の不斉合成が可能と考えられる。さらに、ラセミ体全合成において収率の低い段階につい

て、条件の最適化や小規模なルート変更も行う。



(2) 代表的リコポジウムアルカロイド、リコジンの生合成模擬的合成。

細見 - 桜井反応を利用して 15 位メチル基を立体選択的に導入した、リコジンの全炭素を有する直鎖化合物を調製することができれば、リコポジウムアルカロイド類の生合成模擬的な連続環化反応をフラスコ内で実現可能と推察した。本連続環化反応を用いた、革新的、効率的なリコポジウムアルカロイドの合成法の確立を目指す。目的化合物として、代表的アルカロイドであるリコジンを設定した。

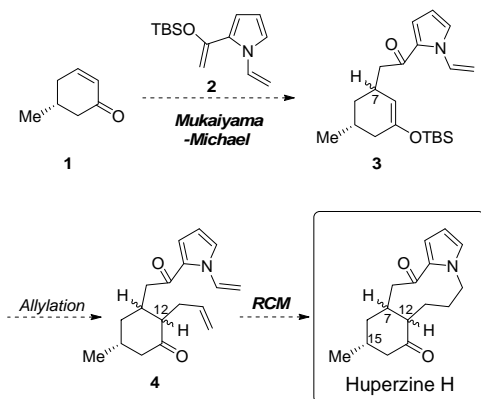


(3) アセチルコリンエステラーゼ阻害作用を有する植物性アルカロイドの徹底的追求。

タイ産リコポジウム属植物について含有アルカロイドを精査し、新規アルカロイドの単離・構造決定を目指す。

(4) フペルジンHの全合成による立体化学の解明。

市販の光学活性な 3-Methylcyclohexanone より得られたシクロヘキサノン **1** を用い、ピロールユニットを持つシリルエノールエーテル **2** と Mukaiyama-Michael 反応により縮合し **3** とする。その後、12 位にアリル基を導入して **4** とする。その 12 位の立体化学については制御もしくは異性化が可能であるので、望みの立体化学を有するアリル体を得ることができる。最後に、Ring-Closing-Metathesis (RCM)により 9 員環を構築して種々の立体化学を有する Huperzine-H の合成を達成し、天然物の立体化学を決定する。

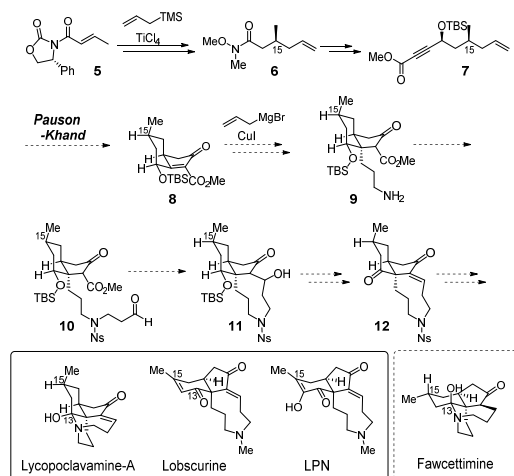


(5) フォーセチミン型アルカロイドの全合成研究。

当研究室にて *Lycopodium clavatum* より単離した新規アルカロイド Lycopoclavamine-A は、15 位メチル基の立体配置が通常の Fawcettimine タイプのアルカロイドと異なる特異な骨格を有する。そこでその構造を確認するため、全合成を計画した。近年我々が Lycoserramine-C や Huperzine-Q の全合成で報告した通り、Pauson-Khand 反応がリコポジウムアルカロイドの全合成に非常に有用であるので、Pauson-Khand 反応を用いた合成計画を立案した。

細見 - 桜井アリル化を用いて 15 位メチル基を立体選択的に導入した後、Weinreb アミドへと変換しアルキンユニットを縮合させて Pauson-Khand 反応前駆体 **7** とした。Pauson-Khand 反応を行い二環性化合物 **8** とした後、有機銅試薬を Michael 付加させることにより 4 級炭素を構築可能と考えた。続いて 1 級アミンへ 3 炭素増炭した後、分子内アルドール反応により 9 員環を構築する。最後に、Ns 基を脱保護することによりヘミアミナルを形成し、Lycopoclavamine-A の全合成を達成する。この全合成の達成により、当研究室で単離した新規アルカロイド

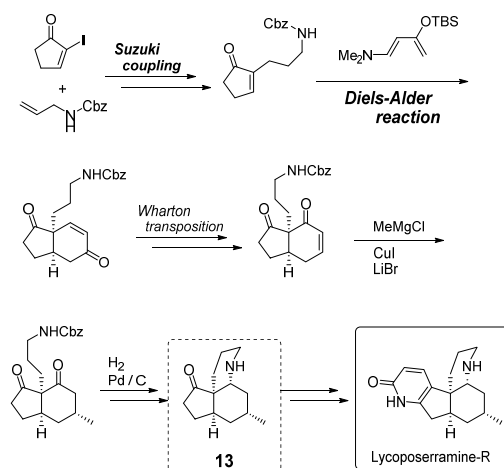
Lobscurine や LPN の全合成も可能になる。



4. 研究成果

(1) 不斉 Diels-Alder 反応を鍵反応としたリコポセラミン R の不斉全合成。

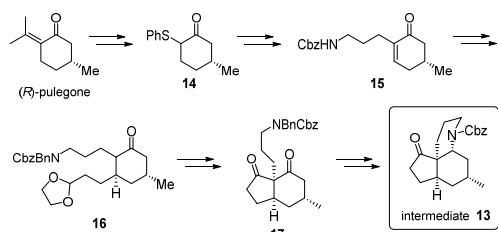
当研究室で達成したリコポセラミン R のラセミ体全合成のルートを下記に示す。前項の「研究の方法」にて述べた通り、不斉補助基を有する Rawal ジエンを用いた Diels-Alder 反応の検討を行ったが、光学収率および単離収率の双方を満足させる結果は得られなかった。光学収率は最大 98%ee で得られたが、その条件下での単離収率は 14%にとどまった。



そこで、出発原料として安価で入手可能な光学活性天然物である (R)-pulegone を用いることにより、不斉全合成を目指すこととした。(R)-pulegone をエポキシ化した後、フェニルスルフィドへ **14** と変換した。C3 ユニットを導入した後、不飽和ケトン **15** へ変換し、有機銅試薬を用いた増炭反応と環化反応により、二環性中間体 **17** へ導いた。その後、還元的アミノ化により、ラセミ体全合

成と共通の中間体 **13** へ変換した。この中間体より、ラセミ全合成と同様の変換を行いリコポセラミン R の不斉全合成を達成した。

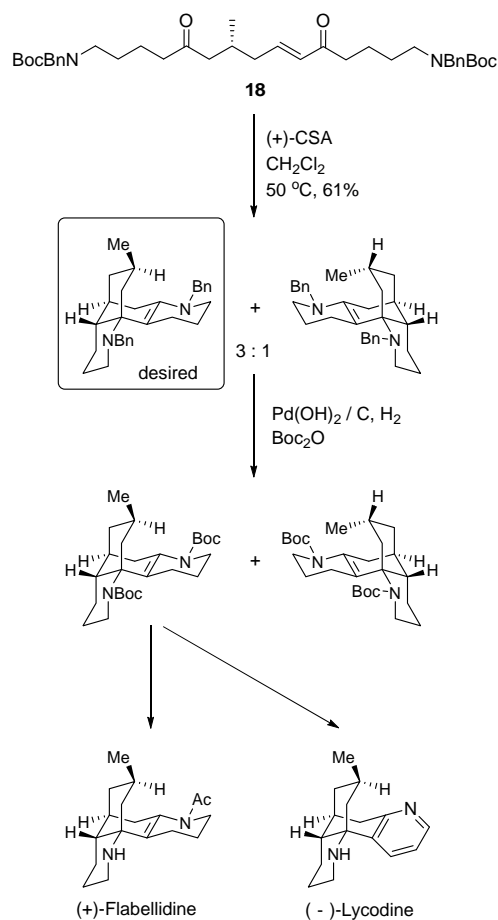
ラセミ全合成の際には低収率であったピリドン環の構築についても、収率の改善に成功した。



(2) 代表的リコポジウムアルカロイド、リコジンの生合成模擬的合成。

細見 - 桜井アリル化により鍵となる不斉炭素を構築した後、リコジンの全 16 炭素分を有する直鎖化合物 **18** へ導いた。

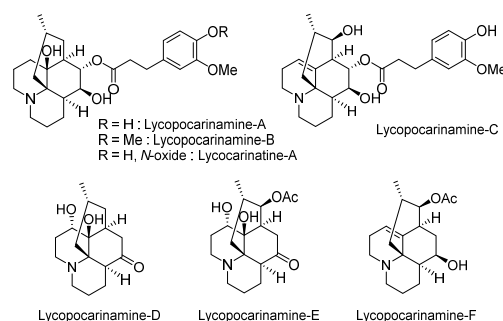
生合成模擬的環化反応の条件を検討するにあたり、植物内での反応を意識し、水中での環化反応を試みた。しかし、**18** は水に不溶であったため、TFA で処理した Boc 基脱保護体を TFA 塩として得た。それを 0.1N 塩酸にて処理したところ、目的の連続環化反応は進



行し、2 種の四環性化合物が得られた。しかしその比率は 1 : 0.8 であり、望みの環化体の立体選択性は満足のいくものではなかった。そこで、反応条件を精査したところ、酸として CSA を用い、CH₂Cl₂ 中 50 °C で反応させることにより 3 : 1 の選択性で目的の環化体を得られた。保護基を Bn 基から Boc 基へ変換することにより、これらの分離に成功し、望みの立体化学を有する四環性中間体より、種々変換を行うことにより、リコジンおよびフラベリジンの全合成を達成した。フラベリジンについては初の全合成であり、リコジンについてはこれまでの全合成の中で最も短段階での全合成となる。

(3) アセチルコリンエステラーゼ阻害作用を有する植物性アルカロイドの徹底的追求。

Lycopodium carinatum より下記の新規アルカロイド類を単離し、詳細なスペクトル解析と化学変換によりそれらの構造を決定した。近年、タイの研究グループにより単離・報告された Lycocarinatine-A とスペクトルデータが一致する化合物を単離し、各種スペクトル解析および化学変換により、その構造



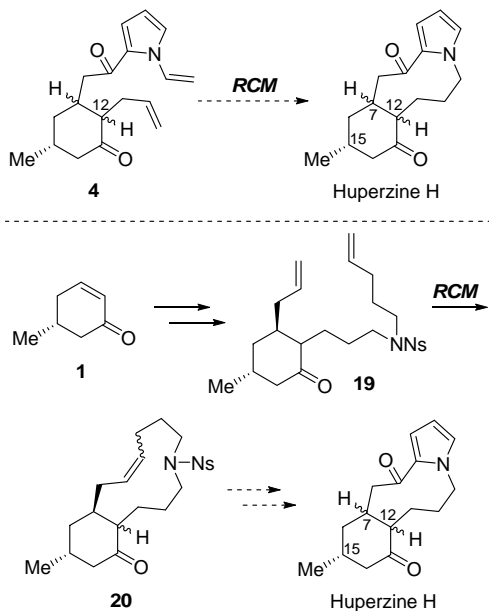
を訂正した。

Lycopodium nummlariformum からも多くの新規アルカロイドを単離・構造決定した。

(4) フペルジン H の全合成による立体化学の解明。

前項の「研究の方法」にて述べた計画通り、RCM 反応前駆体の **4** を調製することはできたが、一般的に構築困難とされる 9 員環化合物は RCM 反応、分子内光延反応のいずれの条件でも得られなかった。そこで、12 員環化合物を得た後、渡環反応により 5 員環と 9 員環を合成する合成ルートへ変更することとした。

これまでに下記の合成ルートにて 12 員環化合物 **20** を得ることができた。今後 9 員環の構築を経て Huperzine-H の全合成を達成する予定である。

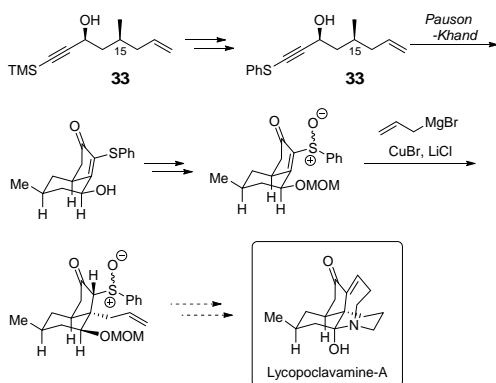


(5) フォーセチミン型アルカロイドの全合成研究。

細見 - 桜井反応により 15 位メチル基を立体選択的に導入した後、のちの変換の効率化を重視して、アルキン末端に SPh 基を導入することとした。それにより、12 位への 3 炭素増炭と、3-4 位間への二重結合の導入が容易になると考えた。

Pauson-Khand 反応をおこなって二環性化合物を得た後、酸化してスルホキッドとした。続いて、有機銅試薬を用いた 1,4 - 付加反応により 12 位の不斉 4 級炭素を構築に成功した。

今後、窒素官能基の導入と 9 員環の構築を経て、Lycopoclavamine-A などの全合成を達成する予定である。



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4件)

- (1) N.Kogure, M.Maruyama, S.Wongseripipatana, M.Kitajima and H.Takayama: New Lycopodine-Type Alkaloids from *Lycopodium carinatum*. *Chem. Pharm. Bull.*, accepted (2016). 査読有.
- (2) H.Ishida, S.Kimura, N.Kogure, M.Kitajima and H.Takayama: The first asymmetric total synthesis of lycoposerramine-R. *Org. Biomol. Chem.*, 13, 7762-7771 (2015). 査読有、DOI : 10.1039/c5ob00827a
- (3) H.Ishida, S.Kimura, N.Kogure, M.Kitajima and H.Takayama: Total synthesis of (\pm)-lycoposerramine-R, a novel skeletal type of *Lycopodium* alkaloid. *Tetrahedron*, 71, 51-56 (2015). 査読有、DOI : 10.1016/j.tet.2014.11.038
- (4) M. Azuma, T. Yoshikawa, N. Kogure, M.Kitajima and H.Takayama: Biogenetically Inspired Total Syntheses of *Lycopodium* Alkaloids, (+)-Flabellidine and (-)-Lycodine. *J. Am. Chem. Soc.*, 136, 11618-11621 (2014). 査読有、DOI : 10.1021/ja507016g

[学会発表](計11件)

- (1) 部家有紗、早乙女航、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：変形 Fawcettimine 型 *Lycopodium* アルカロイド Huperzine-H の不斉全合成研究、日本薬学会第 136 年会、2016 年 3 月 28 日、パシフィコ横浜 (横浜市)
- (2) 丸山萌、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：ヒカゲノカズラ科 *Lycopodium carinatum* 含有アルカロイドの探索研究、日本生薬学会第 62 回年会、2015 年 9 月 11 日、長良川国際会議場 (岐阜市)(優秀発表賞受賞)
- (3) 東雅之、良川哲也、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：Lycodine 型アルカロイド類の生合成経路を模擬した効率的な不斉全合成研究、第 57 回天然有機化合物討論会、2015 年 9 月 9 日、神奈川県民ホール (横浜市)
- (4) 石田寛明、木村真也、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：新規骨格 *Lycopodium* アルカロイド(-)-Lycoposerramine-R の不斉全合成、日本薬学会第 135 年会、2015 年 3 月 28 日、神戸学院大学 (神戸市)
- (5) 高橋駿介、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：Fawcettimine 型リコポジウムアルカロイド Lycopoclavamine-A の不斉全合成研究、日本薬学会第 135 年会、2015

- 年 3 月 27 日、デザイン・クリエイティブセンター神戸（神戸市）
- (6) 石田寛明、木村真也、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：新規骨格 Lycopodium アルカロイド Lycoposerramine-R の不斉全合成研究、第 40 回反応と合成の進歩シンポジウム、2014 年 11 月 10 日、東北大学川内萩ホール（仙台市）
 - (7) 東雅之、良川哲也、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：Lycopodium アルカロイド Lycodine の生合成経路を模擬した短段階不斉全合成、第 105 回有機合成シンポジウム、2014 年 6 月 10 日、東京工業大学（大岡山キャンパス）デジタル多目的ホール（東京都目黒区）
 - (8) 石田寛明、木村真也、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：新規骨格 Lycopodium アルカロイド Lycoposerramine-R の不斉全合成研究、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 29 日、熊本市総合体育館（熊本市）
 - (9) 岡部慧、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：Lycopodium nummulariforium 含有アルカロイドの成分探索、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 29 日、熊本市総合体育館（熊本市）
 - (10) 東雅之、良川哲也、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：Lycopodium アルカロイド Lycodine の生合成経路を模擬した短段階不斉全合成、日本薬学会第 134 年会、2014 年 3 月 28 日、熊本大学黒髪キャンパス（熊本市）
 - (11) 東雅之、良川哲也、小暮紀行、北島満里子、高山廣光：Lycopodium アルカロイド Lycodine の生合成経路を模擬した短段階不斉全合成、第 39 回反応と合成の進歩シンポジウム、2013 年 11 月 5 日、九州大学医学部百年講堂（福岡市）

〔その他〕

ホームページ

<http://www.p.chiba-u.jp/lab/skb/index.html>

6. 研究組織

(1) 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