

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860087

研究課題名(和文) 極めて強力な抗炎症作用を有するレゾルビン類の安定等価体の創製

研究課題名(英文) Discovery of a stable equivalent of resolvins with potent anti-inflammatory action

研究代表者

福田 隼 (FUKUDA, HAYATO)

北海道大学・薬学研究科(研究院)・助教

研究者番号：30434450

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：まず、レゾルビンE2(RvE2)を合成し、シクロプロパン環を導入したCP-RvE2を設計・合成した。続いて、それらの酸化安定性を比較したところ、CP-RvE2はRvE2よりも酸化安定性が格段に向上していることが明らかとなった。さらに、炎症モデルマウスを用いて抗炎症作用を評価したところ、CP-RvE2はRvE2の抗炎症作用と同等であることが分かった。

以上の結果より、本研究においてRvE2の安定等価体の創製に成功した。今後、レゾルビン類を含む多価不飽和化合物安定化についても検討するつもりである。

研究成果の概要(英文)：We achieved a total synthesis of resolvin E2 (RvE2) in short steps, and then succeeded to synthesize an analog of RvE2 (CP-RvE2), in which a chiral cis-cyclopropane moiety was introduced at the C11-C12 moiety. CP-RvE2 was more stable than RvE2 against oxidation and anti-inflammatory action of RvE2 was about the same as that of CP-RvE2. We succeeded to discover the stable equivalent of RvE2.

研究分野：創薬化学

キーワード：レゾルビン 炎症 創薬 安定等価体 不飽和脂肪酸 シクロプロパン 全合成 天然物合成

1. 研究開始当初の背景

レゾルピン類は抗炎症活性を有する不飽和脂肪酸代謝物で炎症収束を促進する新しいタイプの抗炎症性脂質メディエーターである。プロスタグランジン類やロイコトリエン類は ω -6系のアラキドン酸から産生されるのに対して、レゾルピン類は ω -3系のドコサヘキサエン酸やエイコサペンタエン酸から産生される。

本化合物群は様々な抗炎症活性を有することが報告されており (*Prostaglandins & Other Lipid Mediators*, 2004, 73, 155.), それらの活性は他の抗炎症剤に比べて極めて強力 (nM~pM) であり、新たな抗炎症剤として期待されているものの非常に不安定である。すなわち、本化合物群は生合成で極微量でしか得られないことに加えて (*Chem. Rev.* 2011, 111, 5922.), 多価不飽和構造に起因する酸素 (日本栄養・食糧学会誌 2008, 61, 219.), 光あるいは酸・塩基 (*Tetrahedron Lett.* 2010, 51, 1856.) に対して不安定であるといった様々な問題がある。実際に、試薬としてはエタノール溶媒中、-80 で保存する必要がある (Santa Cruz 社)。試薬として扱いづらいことから、それらの安定等価体の創製が強く望まれている。

これまでに、不飽和脂肪酸にシクロプロパンやベンゼン環を導入した研究は報告されているが (*Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1994, 4, 247., *Tetrahedron Lett.* 1987, 28, 5391.), 安定等価体としてそれらを導入した研究は皆無である。従って、本研究はシクロプロパンやベンゼン環を二重結合の安定等価体として多価不飽和脂肪酸の安定化に用いる点で、非常に独創的であり、学術的に意味のある研究と考えられる。

シクロプロパンは環の最小構造であり、その sp^2 様の立体電子構造から、二重結合と生物学的にも等価であると考えられている。従って、スキップした二重結合や共役トリエンにシクロプロパンを導入し、生物活性を落とさずにレゾルピン類の安定等価体が創製できれば、安定な抗炎症剤のリード化合物を供給できる。また、二重結合が密集した箇所にベンゼン環を導入し、生物活性を落とさずにレゾルピン類の安定等価体が創製できれば、安定な抗炎症剤のリード化合物が簡便に供給できる。

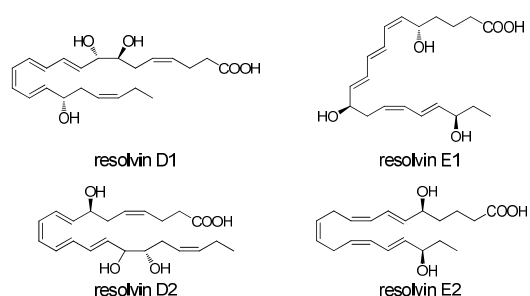
本研究を応用すれば、多価不飽和脂肪酸をはじめとする多価不飽和化合物の不安定性という弱点が克服され、様々な薬のリード化合物の安定供給が可能となるとともに、生物学的・薬理学的研究の発展にも大きく貢献できる。

2. 研究の目的

レゾルピン類は極めて強力な抗炎症性の生体内代謝物であり、炎症調節機能を担うこ

とから、過剰な炎症反応が原因である難治性疾患 (自己免疫疾患など) に対する新しい創薬のリード化合物として期待されている。しかしながら、レゾルピン類には多価不飽和構造 (分子内に多くの二重結合を有する) に起因する安定性に問題があることから、医薬品やバイオツールとしての利用は制限される。

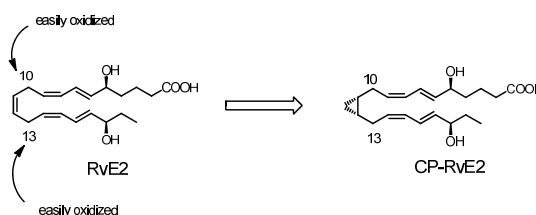
その問題を解決するために、申請者は二重結合を代替するユニットをレゾルピン類に導入し、構造的安定性の付与を目指す。本研究では安定なリード化合物が創製されるとともに生物学的・薬理学的研究の発展にも貢献できる。レゾルピン類について多くの研究がなされてきたが、このような安定化の研究はなく、本研究が成功すれば、レゾルピン類を含む多価不飽和化合物安定化の一般的な方法論となり得る。



3. 研究の方法

レゾルピン E2 (RvE2) はオレフィンに挟まれ 10, 13 位が特に酸化されやすいのではないかと考えた。実際にエネルギー計算を行うと、10, 13 位にラジカルが発生しやすく、酸化されやすいことが示唆された。

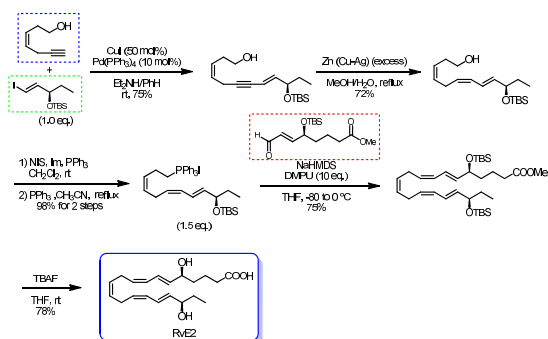
そこで、C11-12 オレフィンをシクロプロパン環に置換することで、RvE2 の安定等価体である CP-RvE2 を合成することとした。



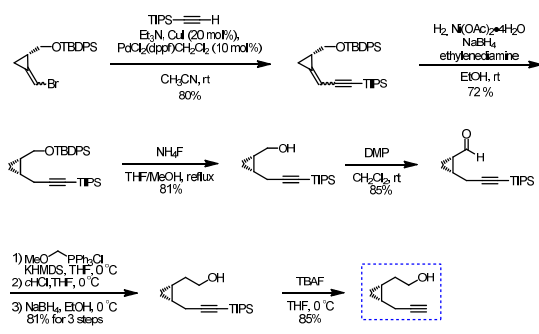
4. 研究成果

まず、RvE2 の合成経路を確立した後に CP-RvE2 を合成することとした。すなわち、3 つのユニットから RvE2 を合成することとしたが、この方法で効率よく RvE2 を合成できれば、青いユニットを変えて同様の方法で CP-RvE2 が合成できると考えた。

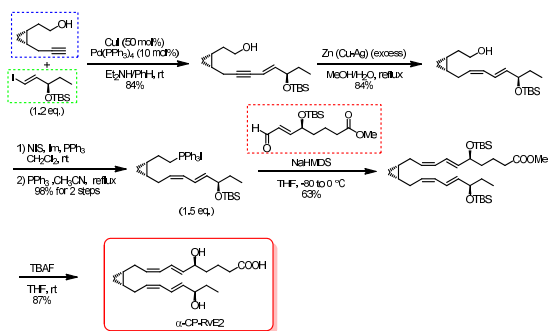
その結果、調製した 3 つのユニットを菌頭カップリング、Wittig 反応を鍵として連結し、RvE2 の合成を達成した。



続いて、シクロプロパン環を導入した青いユニットを調製するために以下の変換を行った。すなわち、光学活性なエピクロロヒドリンから誘導したプロモオレフィンから菌頭カップリング、立体選択的還元を経由して所望するユニットを調製した。



RvE2 の合成と同様の方法で、調製した α -シクロプロパンユニットから α -CP-RvE2 を合成した。さらに、 β -シクロプロパンユニットも調製し β -CP-RvE2 を合成した。



合成した RvE2、 α -CP-RvE2、 β -CP-RvE2 の酸化安定性を比較したところ、 α -CP-RvE2、 β -CP-RvE2 とともに RvE2 よりも酸化安定性が格段に向上していることが明らかとなった。さらに、炎症モデルマウスを用いて抗炎症作用を評価したところ、 α -CP-RvE2、 β -CP-RvE2 とともに RvE2 の抗炎症作用と同等であることが分かった。

以上の結果より、本研究において RvE2 の安定等価体の創製に成功した。今後、レゾルピン類を含む多価不飽和化合物安定化についても検討するつもりである。

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1件)

Determination of -6 and -3 PUFA metabolites in human urine samples using UPLC/MS/MS

Ai Sasaki, Hayato Fukuda, Narumi Shiida, Nobuaki Tanaka, Ayako Furugen, Jiro Ogura, Satoshi Shuto, Nariyasu Mano and Hiroaki Yamaguchi

Anal. Bioanal. Chem. (査読あり), **2015**, *407*, 1625-1639.

[学会発表](計4件)

1. Synthesis and SAR study of resolvin E2
Hayato Fukuda, Yuuki Takakura, Kohei Ishimura, Mitsuhiro Arisawa, Satoshi Shuto
247th ACS National Meeting & Exposition, Dallas, TX, United States, March 16-20, 2014.

2. レゾルピン E2 のシクロプロパン環導による安定等価体の創製
高倉 夕季、福田 隼、石村 航平、田辺 真人、有澤 光弘、周東 智
日本薬学会第 134 年会、熊本大学、2014 年 3 月 28 日(熊本県、熊本市)

3. レゾルピン E2 の安定化を指向した構造活性相関研究
高倉 夕季、福田 隼、石村 航平、田辺 真人、有澤 光弘、周東 智
日本薬学会北海道支部 第 141 回例会、札幌コンベンションセンター、2014 年 5 月 24 日(北海道、札幌市)

4. Design, synthesis and biological evaluation of a stabilized RvE2 analogue
Fukuda, H.; Takakura, Y.; Ishimura, K.; Kanada, ; Hirao, T.; Muromoto, R.; Matsuda, T.; Abe, H.; Arisawa, M.; Shuto, S.
DPHG Annual Meeting 2014, Frankfurt, Germany, September 24-26, 2014

[図書](計0件)

[産業財産権]
出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

[その他]
ホームページ等
<http://www.pharm.hokudai.ac.jp/yuuki/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

福田 隼 (FUKUDA HAYATO)

北海道大学・大学院薬学研究院・助教

研究者番号：30434450

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし