

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 9 月 30 日現在

機関番号：32643

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860091

研究課題名(和文) 軸性キラリティーに基づく立体化学の解明と新規生物活性物質の創製

研究課題名(英文) Stereochemistry based on the axial chirality and development of novel bioactive compounds

研究代表者

田畑 英嗣 (Tabata, Hidetsugu)

帝京大学・薬学部・助教

研究者番号：80445634

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)：医薬品の基本構造として散見される1,5-ベンゾチアゼピン誘導体およびそのS-オキシド体について、ベンゼン環-アミド結合軸に由来する不斉を表出させ、その立体化学の解明を目指した。そして、ベンゾチアゼピン誘導体の軸不斉を分離・単離し、立体構造や軸の熱力学的安定性を明らかにした。また、S-オキシド体では軸不斉と中心不斉に基づくジアステレオマーが得られた。X線結晶解析により異性体の絶対配置を含む立体構造を明らかにすることで興味深い知見を得た。また、バソプレシン拮抗作用を示す活性コンホメーションを明らかにすることを目的として生物活性評価を行い、活性発現に寄与している真の立体構造を明らかにした。

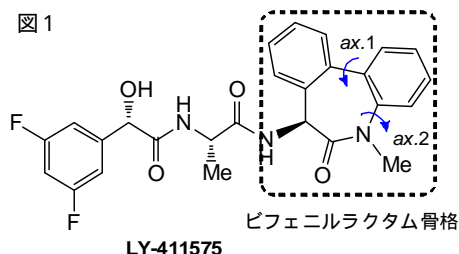
研究成果の概要(英文)：The stereochemistry of N-benzoyl-1,5-benzothiazepine and its S-oxide derivatives as vasopressin receptor ligands was examined in detail by freezing the conformation with a methyl group at the C6 or C9 of 1,5-benzothiazepine. It was revealed that the active forms recognized by the receptors are (cis, aS) for 1,5-benzothiazepine and (cis, 1S, aS) (syn) for its S-oxide. The C9-methyl derivative of 1,5-benzothiazepine S-oxide was designed and synthesized, achieving the putative active syn-stereochemistry.

研究分野：医歯薬学

キーワード：軸不斉 アミド構造 連動性

1. 研究開始当初の背景

医薬品の作用は、医薬品と生体内のターゲット分子（受容体・酵素など）との相互作用により発現される。生体内のターゲット分子はキラルであり、医薬品のキラルティーは生体によって厳密に認識される。そのため、現在の有機化学・医薬化学では、キラルティーの創出、特に不斉炭素に由来するキラルティーの制御をめざした不斉合成が盛んに行われている。しかし、医薬品のキラルティーは、不斉中心によるものだけではない。立体配座が固定されることで生じる動的な不斉（軸不斉）を有するものも多く存在する。軸不斉の存在については見落とされがちであるが、生理活性発現の鍵となる立体構造の解明という観点からも大変重要である。以上のような考えのもと、申請者は、特に、アミドのもたらす軸不斉に着目して研究を行っている。アミドは生体内のタンパク質や受容体の構造（ペプチド結合）として重要なだけでなく、多くの生理活性物質の基本骨格を構成する構造でもある。アミド構造は、その二重結合性により平面性を有し、軸不斉をもたらし場合があるが、医薬品のアミド軸不斉についてはこれまでほとんど注目されていなかった。このような流れの中、申請者は、アルツハイマー病治療薬の候補化合物である LY-411575 (Lilly 社) の基本構造であるジベンゾ



アゼピノン骨格について、アミドがもたらす軸性キラルティーの存在を初めて明らかにした（図1）。さらに、抗不安作用を示すピリミドベンゾジアゼピノン誘導体³⁾やバソプレシン受容体拮抗作用を示すベンゾジアゼピノン誘導体⁴⁾について、軸不斉が生物活性の発現に極めて重要な要因であることを明らかにしつつある。アミド軸不斉の医薬化学への展開については、これまでほとんど検討されておらず、申請者はその先駆けとなっている。本研究では、これまで行ってきた生理活性アミド化合物の不斉軸に関する医薬化学的な展開を進展させると共に、軸性キラルティーの制御（不斉合成）に関する方法論の開発も行う。有機化学の教科書では、軸不斉は稀な例ととらえられているが、アミド関連化合物においては異例ではなく、これを上手に利用することで生理活性発現の鍵となる立体構造の創出がなされることを明らかにしたい。

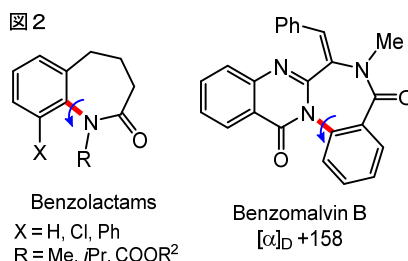
2. 研究の目的

申請者は、不斉軸が存在しているにもかかわらず、そのキラルティーが見落とされている化合物が多く存在すると考えている。それらの効率的な不斉合成法の開発とともに、医薬品開発における動的な軸不斉の重要性を明らかにすることを目的とした。

（1）薬品リード化合物における軸性キラルティーの存在の表出と立体化学の解明

ベンゾラクタム誘導体：抗てんかん薬（クロバザム）や鎮静・抗不安薬（ロフェンダザム）に代表されるように様々な生理活性を持つ化合物の基本母核として認められるベンゾラクタム骨格は、ベンゼン環 - アミド結合間の結合軸にキラルティーを持つと予想される（図2）。既に予備的な検討として、いくつかのベンゾラクタム類の軸性キラルティーについて検討している。それらの知見に基づき、類似の骨格についても軸不斉に基づく詳細な検討を行い、生物活性と軸不斉の関係を明らかにする。

キナゾリノベンゾジアゼピノン類：ベンゾマルピン類に代表されるキナゾリノベンゾジアゼピノン類は、NK₁受容体拮抗作用、コレシストキニン（CCK）受容体拮抗作用などの生物活性を有するキナゾロン系アルカロイドである。この骨格には、キナゾロン環とベンゼン環の2つの平面間にあるN - C結合軸の回転に基づく軸不斉異体が存在すると予想される。中でもベンゾマルピン B（図2）は、不斉中心を持っていないにもかかわらず、天然物として一方のエナンチオマーが単離されている。しかし、その軸性キラルティーについて言及した報告はなく、絶対配置も明らかにされていない。これら天然物ベンゾマルピン類を全合成し、絶対配置も含め、立体構造を明らかにする。



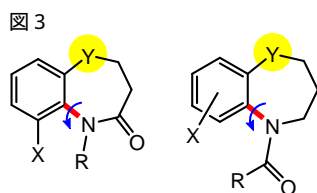
(2) 軸性キラルティーを活かした新規生物活性物質の創製

上記の検討結果を踏まえ、7員環ベンゾラクタム骨格及びキナゾリノベンゾジアゼピノン骨格について、軸不斉を意識した新たな分子設計を行い、構造活性相関研究へ展開する。特に高脂血症治療薬として期待される Acyl CoA: cholesterol acyltransferase (ACAT) 及び Acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT) 阻害活性や、アルツハイマー病治療薬として期待されるγ-セクレターゼ阻害活性に着目し、医薬品候補化合物を創出する。

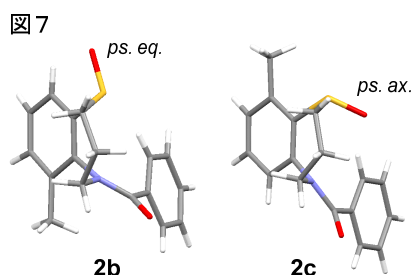
(3) 軸性キラリティーの制御のための方法論の確立軸不斉化合物の研究は、その存在を明らかにする段階が始まったばかりであるが、この分野の発展のためには、軸不斉をコントロールする方法論を開発することが必須である。本申請課題では、軸不斉の創出のためのジアステレオ選択的及びエナンチオ選択的な反応を開発する。特に分子の構造中に軸不斉と中心不斉（不斉炭素）が同時に存在した場合、剛直な中心不斉と動的な（柔軟な）軸不斉がどのように影響しあうのか、明らかにしたい。申請者は、一つの中心不斉を制御することで複数の軸不斉を一挙に構築することが可能と考える。このような効率の良い不斉合成を中心に基礎的な反応の開発を行う。

3. 研究の方法

(1) 医薬品リード化合物における軸性キラリティーの存在の表出及び立体構造の解明
 ベンゾラクタム誘導体：これまでの検討によって、ベンゾラクタム骨格のベンゼン環 - アミド結合間の結合軸にキラリティーが存在し、その軸不斉が活性に大きく影響することが明らかになりつつある。本年度は、環内に窒素や酸素、硫黄のようなヘテロ元素を含有する構造（図 3）について、軸不斉に基づく立体化学を明らかにする。ヘテロ元素を有する環状アミド構造は、医薬品リード化合物の基本骨格となっているものが多く、ヘテロ原子の導入に伴う軸性キラリティーへの影響を明らかにする。7 員環に限らず 8 員環や 9 員環も医薬品の基本骨格として散見されることから、環の大きさによる安定性や立体構造の違いも検討する。



キナゾリノベンゾジアゼピノン類：NK₁ 受容体拮抗作用、CCK 受容体拮抗作用などが期待されるベンゾマルピン類には、キナゾロン環とベンゼン環との結合軸に由来するキラリティーが存在すると予想される。本化合物では、環内の複数の sp²-sp² 軸がどのように相関して立体構造に影響しているか、大変興味深い。初めに、天然物であるベンゾマルピン B の全合成を行う。天然物がキラルな化合物として得られていることから、天然には、軸不斉異性体の一方のみが存在することが予想される。合成にあたっては、両方の立体異性体をラセミ体として合成し、キラルカラムを用いて分離し、構造決定を行うことで、天然物の立体構造及び絶対配置を明らかにする。得られた立体構造の情報に基づき、一方の工



ナンチオマーが得られる生合成過程を解明する。さらに、アミド結合の位置が異なる構造異性体についても合成し、立体化学の比較検討を行う。アミドの位置によって立体構造がどのように変わるか、安定性にどの程度の違いがあるか詳細に検討する。

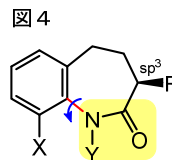
このような軸性キラリティーの存在の証明法や安定性の確認法及び立体構造の確定については、主に ¹H-NMR (VTNMR 及び NOESY) や HPLC を用い、X 線結晶構造解析も利用する。これら分光学的な解析によって明らかとなった安定コンホメーションの妥当性を、計算化学を用いたコンホメーション解析によって検証する。

(2) 軸性キラリティーを活かした新規生物活性物質の創製

得られた立体構造及び安定性等の情報をもとに、上述の骨格を基本構造として新規生物活性物質の創製を行う。ベンゾラクタム骨格については、Acyl CoA: cholesterol acyltransferase (ACAT) 及び Acyl CoA: diacylglycerol acyltransferase (DGAT) を標的とした阻害活性を調べる。

(3) 軸性キラリティーの制御のための方法論の確立

軸不斉は中心不斉に比較して安定性が低いことが難点のように考えられがちであるが、逆に軸不斉の柔軟性を利用すれば、新しいタイプの不斉反応を開発することができる。たとえば、不斉炭素のような剛直な中心不斉を導入することで、軸不斉が影響され、一方の立体構造に偏ることが予想される。すなわち、図 4 のような化合物では、2 つの不斉（中心不斉と軸不斉）に基づき



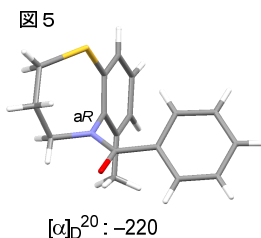
理論上 4 つの異性体（2 つのジアステレオマー）が存在し得るが、軸不斉が中心不斉に連動すれば、一方の立体異性体のみが生ずると予想される。このような軸不斉の連動性を活かして一挙に複数の不斉を構築する方法は、これまで例がなく、大変効率が良いと考える。本法は、特に複数の軸不斉を有するベンゾマルピン類縁体に応用することを目標としたい。ベンゾマルピン類縁体の不斉合成はこれまで全く報告がなく、生合成過程の解明にも役立つと思われる。さらに、エナンチオ選択的な軸不斉反応も開発したい。

4. 研究成果

(1)ベンゾチアゼピン類の軸不斉と立体化学
ヘテロ原子を含むベンゾチアゼピン類として、硫黄原子を持つベンゾチアゼピン類の軸不斉に基づく立体化学に着目した。*N*-アシル-1,5-ベンゾチアゼピン誘導体 (**1a**, **1b**) を合成し、ベンゾチアゼピン類と比較検討した。

ベンゼン環上にメチル基を持たない**1a**では、立体障害が小さいため軸が固定されず、ベンゼン環とアミド結合軸に由来する鏡像異性体(軸不斉異性体)を分離することができなかった。一方、メチル基を持つ**1b**では、キラルカラム(CHIRAL PAK IA)を用いたHPLCで軸不斉異性体を分離できた。さらに、軸不斉異性体の単離にも成功し、旋光度を測定することでそれらがエナンチオマーであることを確認した。マイナスの旋光性を持つエナンチオマーの結晶化にも成功し、X線結晶解析から絶対構造を明らかにした(図5)。

立体構造を類似化合物である*N*-アシル-1,5-ベンゾチアゼピン誘導体と比較したところ、ベンゼン環アミド結合軸が大きくねじれていることが確認できた(73.5° vs 69.5°)。これは、窒素原子に比べて硫黄原子が大きいことからベンゾチアゼピン誘導体の7員環部分が8員環のように広がっているためと考察できた。

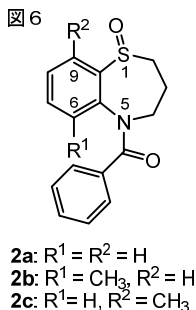


また、熱を加えることで軸が回転し、異性化することから、異性化に伴う軸の熱力学的安定性を調べた。その結果、37 で約3時間でラセミ化し、活性化自由エネルギーが99 kJ/molと算出された。ベンゾチアゼピン誘導体(96 kJ/mol)と比べて安定性が高い理由としては、先に述べた軸のねじれが大きいことが影響していると考えられた。

(2)ベンゾチアゼピン S-オキシド誘導体の立体化学

ベンゾチアゼピン類は酸化することでS-オキシドとなり、硫黄が不斉中心を持つ。すなわち、S-オキシド体は軸不斉と中心不斉を持ち、ジアステレオマーの存在が予想される。そこで、ベンゼン環上の異なる位置に置換基を導入したベンゾチアゼピン S-オキシド誘導体(2a-c)を合成し、軸不斉と中心不斉の関連性を調べた(図6)。

6位にメチル基を持つ**2b**では、97:3の比でジアステレオマーが存在することが分かった。X線結晶解析の結果、1位のS-オキシドがエクアトリアルを向いた構造であることがわかった(図7)。これにより、存在比の少ないジアステレオマーは1位がアキシャルを向いた構造であると推定された。



2bをキラルカラムで分析したところ、4つの異性体が観察され、X線結晶解析からすべての異性体の絶対構造を明らかにすることができた。同様に、9位にメチル基を持つ**2c**では、完全に一方のジアステレオマーしか得られなかった。その立体構造は、1位がアキシャルを向いていることがX線結晶解析から明らかとなった(図7)。立体的に不安定なアキシャル配置をとるジアステレオマーを優先して得られた理由については、9位のメチル基との立体障害によるものと考察した。

(3)バソプレシン(VP)受容体拮抗作用と活性発現に寄与する真の立体構造の解明

我々のこれまでの研究によってベンゾチアゼピン類によるVP受容体拮抗作用では、ベンゼン環アミド結合間の軸不斉がaSの場合に強い阻害活性を示すことが明らかになっている。そこで、ベンゾチアゼピンならびにそのS-オキシド体における活性を調べた(図8)。

1位の不斉中心のみを持つ**3a**では、S配置のエナンチオマーに強い活性が認められた。また、9位にメチル基を持つ**3c**では、中心不斉がSで、軸不斉がaSのエナンチオマーに強い活性が認められた。すなわち、一方のエナンチオマーが強い活性を示し、ラセミ体が中間の値を取り、もう一方のエナンチオマーの活性が弱いことが明らかになった(図9)。

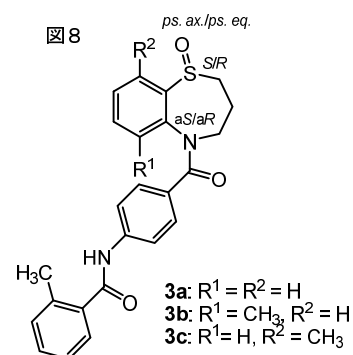


図9

| | IC ₅₀ (μM) | |
|----------------------|-----------------------|------------------------|
| | hV _{1a} | hV ₂ |
| 3a (racemate) | 4.60 | 1.96 |
| 1S | 2.76 | 1.84 |
| 1R | 57% ¹ | 2.80 |
| 3b (racemate) | 55% ¹ | 22% ¹ |
| 3c (racemate) | 1.40 | 34% ¹ |
| 1S, aS | 1.05 | 48%¹ |
| 1R, aR | 53% ¹ | 0% ¹ |

¹Inhibition % at 10 μM

これらの活性評価の結果をまとめると、VP受容体拮抗作用において、活性に寄与する軸不斉の構造はaS配置で、中心不斉の構造はS配置であることがわかった。さらに、高い活性を示すためには中心不斉の向きは、アキシャル配置をとることが重要であることが証明された。

本研究によって、生理活性物質の基本構造として重要なベンゾチアゼピン類の軸不斉の

表出と軸不斉に基づく立体構造や物理化学的性質を明らかにした。また、*S*-オキシド体では、軸不斉と中心不斉の関連性を見出すことに成功するとともに、バソプレシン受容体拮抗作用の作用発現に寄与する真の立体構造を解明した。軸不斉と中心不斉の関連性に関する結果は、今後の医薬品開発に有用な情報となる。今後、軸不斉あるいは中心不斉を効率的に制御できる方法論の開発に繋がっていきたい。

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5件)

1. T. Yoneda, H. Tabata, T. Tasaka, T. Oshitari, H. Takahashi, H. Natsugari. *N*-Benzoyl-1,5-benzothiazepine and Its *S*-Oxide as Vasopressin Receptor Ligands: Insight into the Active Stereochemistry around the Seven-Membered Ring. *Journal of Medicinal Chemistry*, **2015**, *58*, 3268-3273.
2. T. Yoneda, H. Tabata, J. Nakagomi, T. Tasaka, T. Oshitari, H. Takahashi, H. Natsugari. *N*-Benzoyl- and *N*-Sulfonyl-1,5-benzodiazepines: Comparison of Their Atropisomeric and Conformational Properties. *Journal of Organic Chemistry*, **2014**, *79*, 5717-5727.
3. H. Tabata, S. Kayama, Y. Takahashi, N. Tani, S. Wakamatsu, T. Tasaka, T. Oshitari, H. Natsugari, H. Takahashi. A Complete Gear System in *N*-Benzoyl-Carbazole Derivatives. *Organic Letters*, **2014**, *16*, 1514-1517.
4. H. Tabata, T. Yoneda, T. Oshitari, H. Takahashi, H. Natsugari. Stereochemistry of 1,5-Benzothiazepin-4-one *S*-Oxide: Insight into the Stereogenic Elements at the Sulfur Atom and Axis. *Journal of Organic Chemistry*, **2013**, *78*, 6264-6270.
5. S. Wakamatsu, Y. Takahashi, H. Tabata, T. Oshitari, N. Tani, I. Azumaya, Y. Katsumoto, T. Tanaka, S. Hosoi, H. Natsugari, H. Takahashi. Conformation and Atropisomeric Properties of Indometacin Derivatives. *Chemistry-A European Journal*, **2013**, *19*, 7056-7063.

[学会発表](計5件)

1. 田畑英嗣, ベンゾジアゼピン類の立体化学: 軸不斉と中心不斉の連動性について, 日本薬学会第135年会, 平成27年3月26日-28日, 兵庫県神戸市
2. 田畑英嗣, 1,5-ベンゾチアゼピン-4-オン *S*-オキシド誘導体の立体化学, 第68回有機合成化学協会新潟シンポジウム, 平成26年11月29日-30日, 新潟県新潟市 新潟大学
3. 田畑英嗣, *C*3-メチル-1,5-ベンゾジアゼピン類の軸不斉に基づく立体化学の解明, 第

40回反応と合成の進歩シンポジウム, 平成26年11月10日-11日, 宮城県仙台市 萩ホール

4. 田畑英嗣, *N*-アシルおよび *N*-スルホニル-1,5-ベンゾオキサゼピン類の軸不斉に基づく立体化学の解明, 日本薬学会第134年会, 平成26年3月28日-30日, 熊本県熊本市
5. 田畑英嗣, 1,5-ベンゾチアゼピン-4-オン *S*-オキシドの立体化学, 第39回反応と合成の進歩シンポジウム, 平成25年11月5日-6日, 福岡県博多市 九州大学百年講堂

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:
発明者:
権利者:
種類:
番号:
出願年月日:
取得年月日:
国内外の別:

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田畑 英嗣 (TABATA, HIDEITSUGU)
帝京大学・薬学部・助教

研究者番号: 80445634

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号: