

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和元年6月20日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H05641

研究課題名(和文) 中枢神経疾患の理解と治療を目指したエリスリナルカロイド類縁体の網羅的合成研究

研究課題名(英文) Studies on the Comprehensive Syntheses of Erythrina Alkaloids for Medical Research of Central Nervous System

研究代表者

下川 淳 (Shimokawa, Jun)

京都大学・理学研究科・准教授

研究者番号：60431889

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,600,000円

研究成果の概要(和文)：エリスリナルカロイドはスピロアミン構造を中心とした4環性骨格を有する化合物群であり、ニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)アンタゴニストとしての生理活性が期待される。近い構造を持った類縁体天然物が多数知られており、それぞれにおいて部分骨格が様々な酸化段階を持っている。これらを網羅的に合成可能な合成後期多能性中間体を設計し、中員環の軸不斉や一重項酸素酸化などを活用しつつ独自に合成した。その後の変換によって4種のエリスリナルカロイドを初めて不斉合成することに成功した。構造展開によって新たなnAChRアンタゴニストを開発する基盤となる結果を確立した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

学術的な意義としては、まず合成後期中間体の具体的な設計指針を提示し、実際にそこから多様な類縁体化合物を合成してみたこと。また中間体の中員環化合物において非常に興味深い異性化現象を発見し、それを実際の化学合成に応用したことが挙げられる。

社会的な意義としてはにはニコチン性アセチルコリン受容体アンタゴニストとして知られるエリスリナルカロイドについてその一般的な合成法を示すことで、今後サブタイプ選択的アンタゴニストの開発が可能になりうるため、サブタイプの機能の違いやその知見をもとにした新薬の開発などが期待できるようになったことが挙げられる。

研究成果の概要(英文)：Erythrina alkaloids are a group of compounds with a 4-ring structure centered on the spiroamine structure, and are expected to have physiological activity as nicotinic acetylcholine receptor (nAChR) antagonists. Many natural analogs with similar structures are known, each of which has a different partial skeleton with different oxidation states. The authors designed a synthetic late-stage pluripotent intermediate capable of synthesizing these comprehensively, and synthesized it independently by utilizing axial stereochemistry of a medium-membered ring and singlet oxygen oxidation. Asymmetric synthesis of four erythrina alkaloids was achieved for the first time by subsequent conversion. Structural developments have established the basis for the development of new nAChR antagonists.

研究分野：天然物合成化学、反応開発

キーワード：エリスリナルカロイド 天然物全合成 ニコチン性アセチルコリン受容体

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

中枢神経疾患における役割が徐々に明らかになるとともに、ニコチン性アセチルコリン受容体(nAChR)が創薬ターゲットとしての注目を集めていた[Nature Rev. Drug Disc. 2009, 8, 733]。nAChRは、ニコチン依存症の原因であることに加え、パーキンソン病、アルツハイマー病、統合失調症、自閉症、更にはうつ病とも深い関係があることが示されている。ニコチン性アセチルコリン受容体は膜タンパク質の複合体であり、単一分子内に受容体とチャネルの2つの機能を持ち合わせるリガンド開閉型イオンチャネルである(図1)。アセチルコリンが受容体に結合することによる一時的な構造変化により、受容体内部に存在するイオンチャネルが開閉し、細胞内外の濃度勾配により陽イオンを細胞内に取り込む。nAChRは5つのサブユニットから構成される5量体であり、ヒト中枢神経領域におけるアセチルコリン受容体サブユニットは $\alpha 2$ - $\alpha 10$ 、 $\beta 2$ - $\beta 4$ の12種類が報告されている。これらがヘテロもしくはホモ5量体を形成して受容体を形成しており、中枢神経においては $\alpha 7$ 型と $\alpha 4\beta 2$ 型が最も多く見られる(図2)。これらの部位にアセチルコリンが結合した後にC-loop構造が被さり、イオンの通過孔が開閉する調節機構は、近年になりアセチルコリン受容体の詳細な立体構造を低温電子顕微鏡法によって解析することによって初めて明らかにされた[Nature 2002, 423, 949]。これまでnAChR関連薬剤としては、アゴニストの開発が創薬ターゲットとしての注目を集めてきたが[J. Med. Chem. 2012, 55, 8028; J. Am. Chem. Soc. 2012, 134, 6732]、最近になりnAChRのアнтаゴニストが薬物依存症、ニコチン依存症、さらにはうつ病の治療に有望であると報告されている[J. Med. Chem. 2013, 56, 9673]。既存のnAChRアンタゴニストとしてはサブタイプ非選択的かつ非競合性アンタゴニストであるメカミラミンが臨床的に使われている。当初は抗低血圧薬として開発されたが現在では薬物依存治療に対して用いられ、抗うつ薬としての治験が第III相まで進んでいる。一方 $\alpha 4\beta 2$ 型選択的な競合性nAChRアンタゴニストとして試験的に用いられる試薬としてジヒドロ $\beta$ エリスロイジン(DH $\beta$ E)が有名である。2012年にDH $\beta$ Eとウミヘビ由来アセチルコリン結合タンパク(Ls-AChBP)の共結晶構造が報告され、DH $\beta$ EのAB環がニコチンと同様の配向で、Trp143及び水分子を介したLeu102及びMet114との結合によってアセチルコリン結合領域に結合することが示された(図4)[PLOS ONE 2012, 7, e40757]。剛直かつ大きなDH $\beta$ EのCD環構造がレセプターのC-loop構造を追いやり、チャネル開口を阻害することでアンタゴニスト活性が発揮されるメカニズムが明らかになった。この結果は従来CD環が結合活性を担っているとされてきた結果を覆し、新しい視点からDH $\beta$ Eの研究をもとに新しい機構で作用するnAChRアンタゴニスト開発が必要なることを示していた。

### 2. 研究の目的

構造生物学研究により明らかになった結合領域の詳細な構造と結合様式の情報に元、DH $\beta$ Eの構造展開によって、更に強力かつ高いサブタイプ選択性を持った新たなnAChRアンタゴニスト開発を実現することを目的に本研究を行った。マメ科Erythrina属植物より単離されるエリスリナルカロイドは、経口投与でクラレ様の筋弛緩作用を示すことが知られており、古来より様々な民間療法に用いられてきた化合物群である。これらは、種々の酸化状態のヒドロインドール骨格と、テトラヒドロイソキノリン骨格とが4置換炭素を介して縮環している特異な構造を有しており、100種類以上の類縁体が知られる大きな化合物群であることから、多くの合成化学者の興味の対象となってきた。DH $\beta$ Eの構造類縁体であるこれらエリスリナルカロイド類に、D環がラクトン環でなく芳香環であるものを含めて広くnAChRアンタゴニスト活性があることが示唆されている[Mol. Pharmacol. 2010, 78, 366; PLOS ONE 2013, 8, e82726]。そのためエリスリナルカロイド及びその類縁体全般にnAChRアンタゴニスト活性が期待できる。そこでこれらを広く天然体に限らず合成し、また活性評価することによって構造活性相関を見出すことを目指した。DH $\beta$ Eはマウスにおいて経口投与により抗うつ作用を発揮することから血液脳関門を透過することがわかっており、経口投与型の抗うつ薬としての可能性も大きい。本研究期間内においてエリスリナルカロイドの構造をもとにしたサブタイプ機能解析のツール開発及び医薬品リードの創出を行い、可能な限りnAChRサブタイプに関する基礎的知見及び医薬品としての可能性を追求することを大きな目標として設定した。

図1 ニコチン性アセチルコリン受容体の構造

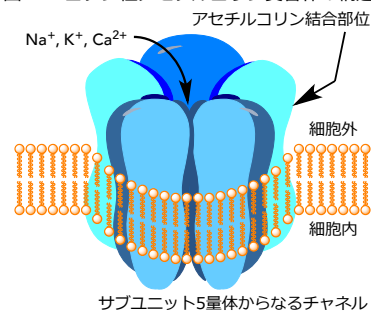


図2 代表的な中枢性nAChRのサブタイプ

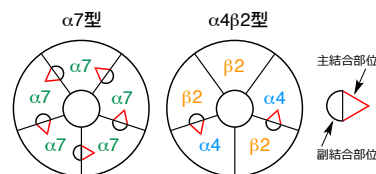


図3 代表的なnAChRアンタゴニスト

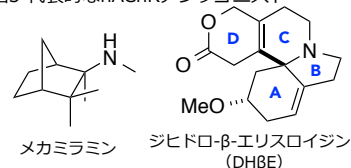
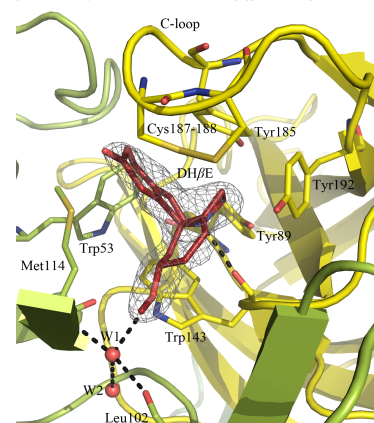


図4 DHBEとLs-nAChBPとの共結晶構造から結合に必要なリガンド上の官能基が判明した



### 3. 研究の方法

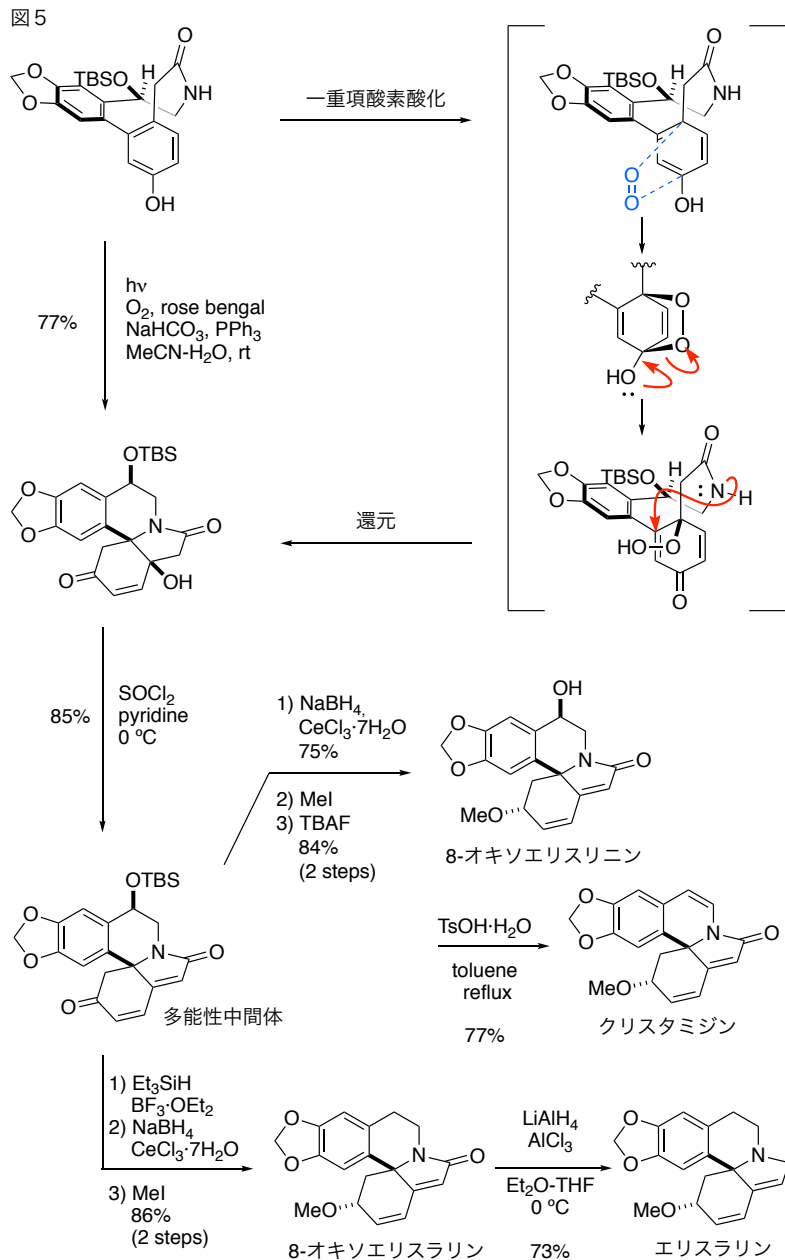
エリスリナアルカロイドに共通するA-D環の縮環骨格を有し、種々の酸化段階、官能基を導入できる多分化能性中間体を設計した。ビアリール構造を有する中員環ラクタム中間体の光反応条件における一重項酸素酸化と環化反応によってラセミ体の多能性中間体が得られたため、これを不斉合成することを検討した。以上により得られる多分化能性中間体に対して酸化、還元、脱離などを種々組み合わせ適用することにより100種類以上知られる天然型エリスリナアルカロイドを網羅的に合成する。少なくともこれらを実現できるだけの多能性を持った中間体を実際に合成する。

また、DHβEとウミヘビ由来アセチルコリン結合タンパクの共結晶構造情報を活用してインシリコに非天然体を設計・合成し、これらすべての合成化合物を用いてアセチルコリン結合タンパクとの結合活性及びアセチルコリン受容体へのアンタゴニスト活性を調査し、構造活性相関を確立する。さらにホモロジーモデル解析と構造活性相関の情報を組み合わせることにより、より強力なサブタイプ選択的ナリガンドの実現と医薬への展開を目指し、再設計、合成、活性評価を繰り返すことが研究全体の計画である。

### 4. 研究成果

独自の多分化能性合成後期中間体を不斉合成し、ここから短段階で多様なエリスリナアルカロイド及びその類縁化合物を合成し、その構造活性相関を調査することを大きな目標として研究した。まずはエリスリナアルカロイドの代表的化合物であるエリスラリンの不斉合成経路を確立することを目指した。中員環中間体は環化反応の際にジアステレオマー混合物として生成することを発見し、この興味深い現象を理解し、また解決するために予想以上の検討を要した。結果として2-ブタノール中で加熱することで徐々に環化当初のものと逆のジアステレオマーに寄せることができることを発見し、解決した。

次にそのスケールアップ合成を確立し、他のエリスリナアルカロイド類を合成することを目指した。スケールアップにおいては図5の一重項酸素を生成する光反応条件について改善が必要であることがわかった。酸素の供給法、光の当て方、最後の還元的後処理法などを各種改善することで、グラムスケール以上の再現性高い一重項酸素酸化反応を実現した。以上をもとにエリスリナアルカロイド4種を合成後期中間体から非常に短段階に合成する手法を開発した。結果としてこの中間体はより多くの天然、非天然のエリスリナアルカロイド類を合成できる可能性を持っていると言える。エリスラリンの多分化能性合成後期中間体から合成し、エリスリナアルカロイドを用いた活性評価をもとにした構造活性相関を出発点に新たに設計するという流れについてはあまり進展が見られなかった。適切な活性評価をできる環境を探することで将来的に実現できるようにしたいと考えている。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕（計 11件）

1. “Copper-catalyzed Twofold Silylmetalation of Alkynes” Hiroki Yamagishi, Jun Shimokawa, Hideki Yorimitsu, *Synlett* **2019**, *in press*.
2. “Photoredox Fischer Indole Synthesis” Atsushi Kaga, Tomohiro, Fukushima, Jun Shimokawa, Masato Kitamura, *Synthesis* **2019**, *in press*. (DOI: 10.1055/s-0037-1611535)
3. “Four-component Coupling Strategy for 2,3,4-Trisubstituted 3,4-Dihydroquinoline” Hiroki Yamagishi, Shun Tsuchiya, Hayate Saito, Keisuke Nogi, Jun Shimokawa, Hideki Yorimitsu, *Heterocycles* **2019**, *99*, 301–309. (DOI: 10.3987/COM-18-S(F)24)
4. “Synthesis of the Core Structure of Phalarine” Kazuya Douki, Jun Shimokawa, Masato Kitamura, *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 1727–1730. (DOI: 10.1039/C8OB02320D)
5. “Synthetic Studies on Heteropolycyclic Natural Products: Development of Divergent Strategy” Jun Shimokawa, *Chem. Pharm. Bull.* **2018**, *65*, 105–115. (DOI: 10.1248/cpb.c17-00819)
6. “Synthetic Studies on Heteropolycyclic Natural Products: Strategies via Novel Reactions and Reactivities” Jun Shimokawa, Tohru Fukuyama, *J. Synth. Org. Chem., Jpn.* **2017**, *75*, 1115–1124. (DOI: 10.5059/yukigoseikyokaisai.75.1115)
7. “The cryo-EM structure of gastric H<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPase with bound BYK99, a high-affinity member of K<sup>+</sup>-competitive, imidazo[1,2-*a*]pyridine inhibitors” Kazuhiro Abe, Jun Shimokawa, Mao Naito, Keith Munson, Olga Vagin, George Sachs, Hiroshi Suzuki, Kazutoshi Tani, Yoshinori Fujiyoshi, *Sci. Rep.* **2017**, *7*, 6632. (DOI: 10.1038/s41598-017-06698-8)
8. “Enantioselective Total Synthesis of (+)-Hinckdentine A via a Catalytic Dearomatization Approach” Kazuya Douki, Hiroyuki Ono, Tohru Taniguchi, Jun Shimokawa, Masato Kitamura, Tohru Fukuyama, *J. Am. Chem. Soc.* **2016**, *138*, 14578–14581. (DOI: 10.1021/jacs.6b10237)
9. “Unified Total Synthesis of Five Gelsedine-type Alkaloids: (–)-Gelsenicine, (–)-Gelsedine, (–)-Gelsedilam, (–)-14-Hydroxygelsenicine, and (–)-14,15-Dihydroxygelsenicine” Takaaki Harada, Jun Shimokawa, Tohru Fukuyama, *Org. Lett.* **2016**, *18*, 4622–4625. (DOI: 10.1021/acs.orglett.6b02263)
10. “Antiproliferative Activity of Amathaspiramide Alkaloids and Analogs” Jun Shimokawa, Koji, Chiyoda, Hirotatsu Umihara, Tohru Fukuyama, *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 1239–1241. (DOI: 10.1248/cpb.c16-00256)
11. “Development of a Divergent Synthetic Route to the Erythrina Alkaloids: Asymmetric Syntheses of 8-Oxo-erythrinine, Crystamidine, 8-Oxo-erythraline, and Erythraline” Hirotatsu Umihara, Tomomi Yoshino, Jun Shimokawa, Masato Kitamura, Tohru Fukuyama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 6915–6918. (DOI: 10.1002/anie.201602650)

〔学会発表〕（計 4件）

1. 下川淳、「多官能性化合物の合成戦略開拓」、第6回慶應有機化学若手シンポジウム（招待講演）、2018年

2. 下川淳、「Short Synthesis of Phalarine Core Structure」、IKCOC-14（国際学会）、2018年
3. 下川淳、「多能性中間体が拓く網羅的天然物合成」、日本薬学会年会第137年会（招待講演）、2017年
4. 下川淳、「Aiming Divergent Syntheses of Polycyclic Natural Products」、Pacifichem 2015（招待講演）、2015年

〔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

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：福山透

ローマ字氏名：Tohru Fukuyama

研究協力者氏名：北村雅人

ローマ字氏名：Masato Kitamura

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。