

## 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5月24日現在

機関番号：12501
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2011～2012
課題番号：23790124
研究課題名（和文） AChE阻害活性を有する植物アルカロイドの探索・全合成と構造活性相関の検討
研究課題名（英文） Studies on isolation, total syntheses and structure-activity relationship of plants alkaloids with AChE inhibitory activity
研究代表者 小暮 紀行 (KOGURE NORIYUKI) 千葉大学・大学院薬学研究院・助教 研究者番号：80396689

## 研究成果の概要（和文）：

本研究では、ヒカゲノカズラ科リコポジウム属植物とヒガンバナ科植物に含有されるアセチルコリンエステラーゼ阻害活性を有するアルカロイドにターゲットを絞り、その単離・構造決定と全合成研究を行なった。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、これまでに当研究室にて単離された数種の新規アルカロイドの全合成を達成した。

## 研究成果の概要（英文）：

This research was aimed for the search of plant alkaloids which has AChE inhibitory activity by separation from *Lycopodium* and Amaryllidaceae plants, chemical total synthesis of natural alkaloids. As a result, we succeeded in the isolation and structure elucidation of many new alkaloids and achieved the total syntheses of several kinds of natural alkaloids.

## 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	3,300,000	990,000	4,290,000

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：アルカロイド、アセチルコリンエステラーゼ、リコポジウム、ヒガンバナ

## 1. 研究開始当初の背景

超高齢化社会に突入した現在、高齢者にも安全に使用でき、有効な記憶障害改善薬の開発が急務である。

これまでに、アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害を作用機序とする認知症改善薬としてドネペジル (アリセプト) が国内で初めて実用化された。さらに、同じ作用機序を有する植物由来の天然アルカロイド類と

して、ヒューペリチンA (リコポジウムアルカロイド)、ガランタミン (ヒガンバナ科アルカロイド)、フィゾスチグミン誘導体を素材とした創薬研究が世界各国で実施され、ガランタミン (レミニール) が臨床的に利用されるようになり、ヒューペリチンAはアメリカにおいて第3相臨床試験中である。また、これらとは作用機序が異なり、NMDA受容体を阻害することにより活性を示すメマンチンが世

界で初めて高度アルツハイマー型痴呆症治療薬として、アメリカ、EU加盟国で承認された。日本においては、ガランタミン、メマンチン、リバスチグミンの治験が終わり審査中であるが、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。また近年、アルツハイマー病の原因と考えられる老人斑の形成に関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。

## 2. 研究の目的

本研究では、ヒカゲノカズラ科 *Lycopodium* 属植物とヒガンバナ科植物 (*Lycoris* 属、*Haemanthus* 属、*Crinum* 属など) 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、その不斉全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

### (1) Pauson-Khand 反応を利用したアルカロイド Huperzine-Q (1) の不斉全合成。

我々が報告した Lycoposerramine-C の不斉全合成により、*Lycopodium* アルカロイドの全合成には Pauson-Khand 反応が非常に有用であることが示された。そこで本合成ルートを利用した Huperzine-Q (1) の不斉全合成研究に着手した。

### (2) 分子内 Diels-Alder 反応を鍵反応とした Lycoposerramine-R (2) の全合成。

Lycoposerramine-R (2) は当研究室にて単離・構造決定された新規アルカロイドである

が、単離した Lycoposerramine-R は微量であったため、その生物活性の評価は未だ行っていない。そこで、活性評価用のサンプル供給と絶対配置の決定を目的として、全合成研究に着手した。Lycoposerramine-R は 6 員環構造を含んでいることと、不斉全合成への展開が容易ということを考慮し、鍵反応として Diels-Alder 反応を選択した。

### (3) ヒガンバナ科植物より得られた新規アルカロイド Seco-isopowellaminone (3) の化学変換による構造決定。

当研究室にてヒガンバナ科植物 *Crinum asiaticum* var. *sinicum* より単離した新規アルカロイド Seco-isopowellaminone (3) の構造を決定するため、Galanthamine からの化学変換を実施した。

### (4) 分子内 Diels-Alder 反応を鍵反応とした Lycorine およびその誘導体の全合成。

Lycorine の 1-O-アセチル誘導体に認知症治療薬であるガランタミン (レミニール) と同程度の強力なアセチルコリンエステラーゼ阻害活性が認められたことから、Lycorine 誘導体が新しい記憶障害改善薬開発のためのリード化合物となる可能性が十分にある。そこで、リコリン誘導体を効率的に合成可能な全合成ルートの確立を目的とし、研究をおこなった。鍵反応として 4 つの不斉炭素を一挙に構築可能な Diels-Alder 反応を設定した。

### (5) ACh 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。

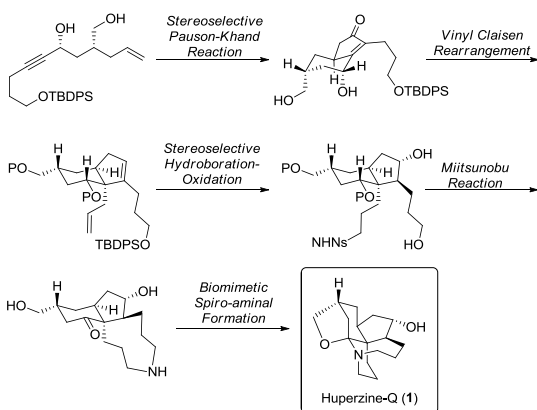
栃木県産 *L. serratum* およびタイ産 *L. suquarrosum* および *L. nummularifolium* について含有成分の精査を行なった。

## 4. 研究成果

### (1) Pauson-Khand 反応を利用した新規アルカロイド Huperzine-Q (1) の不斉全合成。

特異な骨格を有する Huperzine-Q (1) の絶対立体配置は未決定であり、その生物活性も評価されていなかった。そのため、絶対配置の決定と活性評価用サンプル供給法の確立を目的として、全合成研究に着手した。

シリルテザー法によって Pauson-Khand 反応の立体選択性を制御することに成功し、生合成を模倣した変換により、特徴的なスピロヘミアミナル骨格の構築に成功した。これにより Huperzine-Q (1) の初の全合成を達成するとともに、未解明であった絶対立体配置を明らかにした。

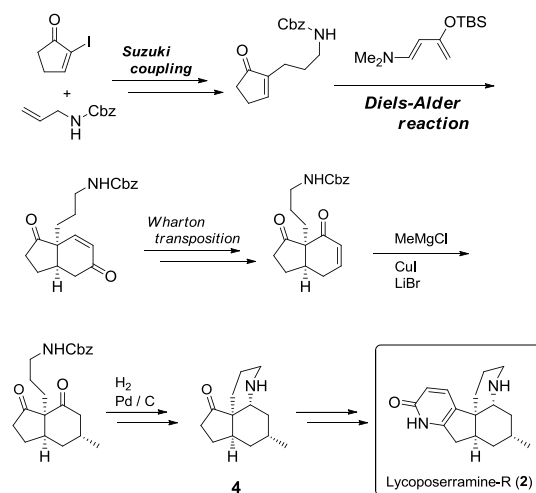


### (2) 分子内 Diels-Alder 反応を鍵反応とした Lycoposerramine-R (2) の全合成。

市販のシクロペンテノンをもヨウ素化した後、アリルアミン誘導体との鈴木カップリング、別途調製した Rawal ジエンとの分子内 Diels-Alder 反応、ワートン開裂を鍵反応として、重要中間体となる三環性化合物 **4** を合成した。その後、カルボニル基を足掛かりとし、収率に改善の余地はあるもののピリドン環の構築に成功し、Lycoposerramine-R (2) の全合成を達成した。

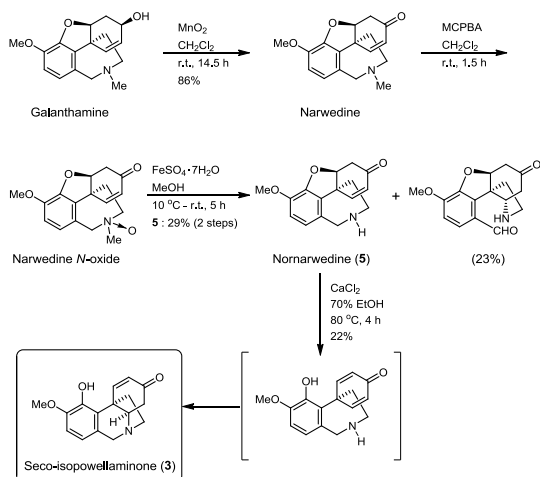
現在は、不斉全合成と合成ルート（主に低収率段階）の改善に取り組んでいる。鍵反応

である Diels-Alder 反応において、種々の不斉補助基を有するジエンを合成し詳細に反応条件を検討したところ、不斉補助基にオキサゾリジノン系を有するジエンを用いた際に収率 53%、エナンチオ過剰率 80% で目的物を得ることができた。さらに反応条件を検討したところ、最大で 98% のエナンチオ過剰率で環化体を得ることができたが、そのときの収率は 14% であった (80% は原料回収)。今後、さらなる条件検討と合成のモディフィケーションを行う。また、合成中間体や各種誘導体について活性評価を行う予定である。



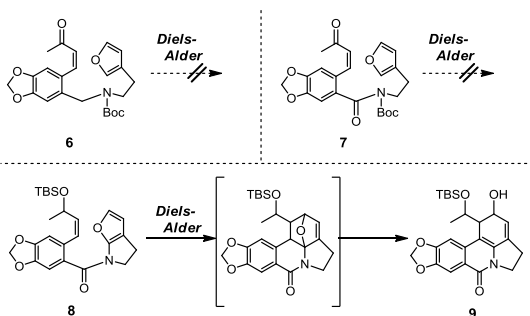
### (3) ヒガンバナ科植物より得られた新規アルカロイド Seco-isopowellaminone (3) の化学変換による構造決定。

Galanthamine のアリルアルコールを  $\text{MnO}_2$  で酸化した後、窒素に結合したメチル基を 2 段階で除去し、**5** を得た。最後に、70% EtOH 中塩化カルシウムで処理することにより C-O 結合間の retro-Michael 反応と C-N 結合間の Michael 反応が一挙に進行し、低収率ではあるものの Seco-isopowellaminone (**3**) の合成を達成した。この変換により、**3** の絶対立体配置を含めた構造を決定することができた。今後、合成品および各種中間体の活性評価を行う。

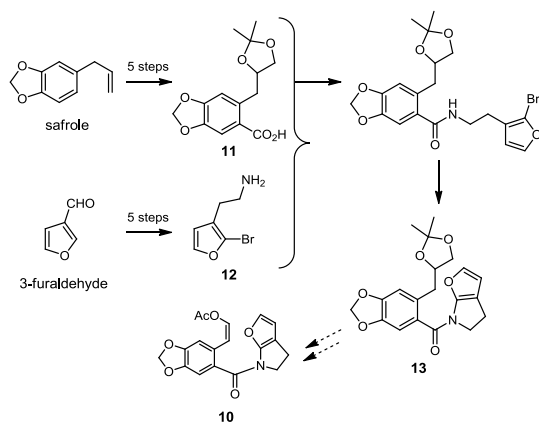


#### (4) 分子内Diels-Alder反応を鍵反応とした Lycorineおよびその誘導体の全合成。

Diels-Alder の前駆体として設定した化合物 **6**, **7** を合成し Diels-Alder 反応を試みたが、Microwave 照射下においても超高压条件 (800Mpa) においても反応は進行しなかった。基質をアミドフラン化合物 **8** に変更したところ、Diels-Alder 反応は進行したが、その後にオキシドブリッジの開裂と共鳴安定化が起り、**9** が得られてしまった。

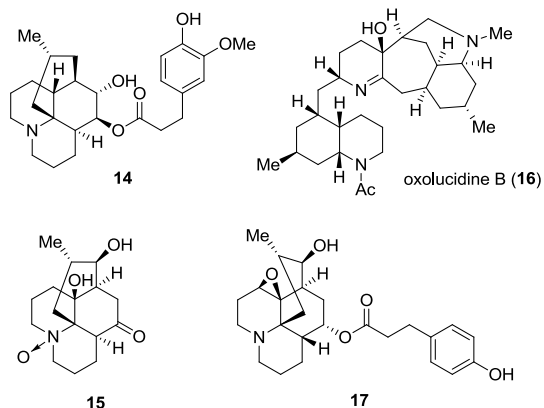


そこで、新たな Diels-Alder 反応前駆体として **10** を設計した。safrole より合成したカルボン酸 **11** と 3-furaldehyde より得られたアミノフラン **12** を脱水縮合した後、銅を用いた分子内芳香族アミド化反応によりアミドフラン **13** を合成した。現在、**10** への変換を試みているところである。

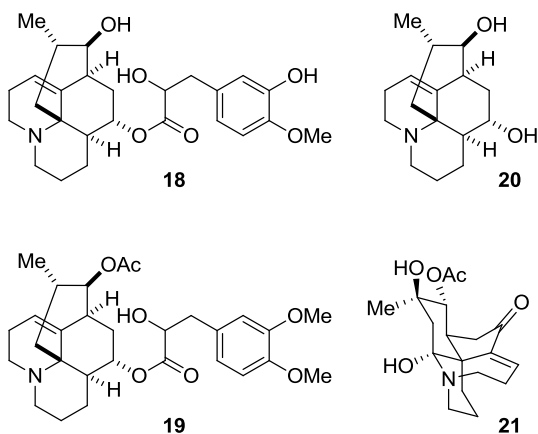


#### (5) ACh エステラーゼ阻害作用を有する植 物性アルカロイドの徹底的追求。

栃木県産 *L. serratum* の MeOH エキスより調製した粗塩基画分を各種クロマトグラフィーにて分離・精製し、新規アルカロイド 2 種 (**14**, **15**)、C30N3 型アルカロイド oxolucidine B (**16**) を含む 27 種のアルカロイドを単離した。*L. squarrosus* の MeOH エキスから調製した粗塩基画分からは、新規アルカロイド **17** を得た。



さらに、*L. nummulariflorum* からは **18**~**21** を含む 7 種の新規アルカロイドと 9 種の既知アルカロイドを単離した。新規アルカロイドの立体配置については、一部未決定であるが、今後スペクトル解析または合成・化学変換により決定する予定である。



## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

- (1) N. Kogure, Y. Suzuki, Y. Wu, M. Kitajima, R. Zhang and H. Takayama : Chemical conversion of Strychnine into Kopsiyunnanine-I, a new hexacyclic indole alkaloid from Yunnan *Kopsia arborea*. *Tetrahedron Lett.*, **53** (48), 6523-6526 (2012), 査読有, DOI : 10.1016/j.tetlet.2012.09.078.
- (2) H. Nishiyama, M. Ono, T. Sugimoto, T. Sasai, N. Asakawa, T. Matsumoto, T. Yaegashi, M. Nagaoka, T. Matsuzaki, N. Kogure, M. Kitajima, and H. Takayama: Synthesis and Biological Evaluation of 4-Chlorocolchicine Derivatives as Potent Anticancer Agents with Broad Effective Dosage Ranges. *Med. Chem. Comm.*, **3** (12), 1500-1504 (2012), 査読有, DOI : 10.1039/c2md20250f.
- (3) A. Nakayama, N. Kogure, M. Kitajima, and H. Takayama : First Asymmetric Total Synthesis of a Pentacyclic *Lycopodium* Alkaloid, Huperzine-Q. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **50** (35), 8025-8028 (2011), 査読有, DOI : 10.1002/anie.201103550.
- (4) K. Katakawa, H. Mito, N. Kogure, M. Kitajima, S. Wongseripipatana, M. Arisawa, and H. Takayama : Ten New Fawcettimine-related Alkaloids from Three Species of *Lycopodium*. *Tetrahedron*, **67** (35), 6561-6567 (2011), 査読有, DOI : 10.1016/j.tet.2011.05.107.
- (5) N. Kogure, N. Katsuta, M. Kitajima, and H. Takayama : Two New Alkaloids from *Crinum asiaticum* var. *sinicum*. *Chem. Pharm. Bull.*, **59** (12), 1545-1548 (2011), 査読有, <https://www.jstage.jst.go.jp/article/cpb>

/59/12/59\_12\_1545/\_pdf.

〔学会発表〕(計 件)

- (1) 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 133 年会、2013 年 3 月 30 日、横浜.
- (2) 岡部慧、小暮紀行、北島満里子、高山廣光 : *Lycopodium nummularifolium* のアルカロイド成分の探索. 日本薬学会第 133 年会、2013 年 3 月 28 日、横浜.
- (3) 中山淳、小暮紀行、北島満里子、高山廣光 : Pauson-Khand 反応を基盤とした Fawcettimine の不斉全合成研究. 日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 31 日、札幌.
- (4) 池城沙耶子、北島満里子、小暮紀行、片川和明、高山廣光 : 栃木県産 *Lycopodium serratum* 含有アルカロイドの成分探索. 日本薬学会第 132 年会、2012 年 3 月 30 日、札幌.
- (5) A. Nakayama, N. Kogure, M. Kitajima and H. Takayama : Synthetic Studies of Fawcettimine-type *Lycopodium* Alkaloids, Potential Seed Molecules for Drug Development. 8<sup>th</sup> AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS11), Dec. 30, 2011, Tokyo.
- (6) S. Kimura, N. Kogure, M. Kitajima and H. Takayama : Synthetic Study of Lycoposerramine-R, A Novel Skeletal Type of *Lycopodium* Alkaloids. 8<sup>th</sup> AFMC International Medicinal Chemistry Symposium (AIMECS11), Dec. 30, 2011, Tokyo.
- (7) 小暮紀行 : アセチルコリンエステラーゼ阻害活性を有する植物アルカロイドに関する化学的研究、第 4 回食品薬学シンポジウム 生薬天然物部会奨励研究講演 (受賞講演)、2011 年 10 月 28 日、東京.
- (8) 中山淳、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類の不斉全合成研究. 第 99 回有機合成シンポジウム、2011 年 6 月 15 日、東京.

〔その他〕

ホームページ

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

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

小暮 紀行 (KOGURE NORIYUKI)

千葉大学・大学院薬学研究院・助教

研究者番号 : 80396689