

機関番号 : 10101

研究種目 : 若手研究 (A)

研究期間 : 2007 ~ 2010

課題番号 : 19681022

研究課題名 (和文) 天然物類似低分子群の多様性指向型合成法開拓と抗感染症活性物質の創製

研究課題名 (英文) Diversity-oriented synthesis of natural product analogs and development of lead candidates for anti-infectious agents

研究代表者

大栗 博毅 (OGURI HIROKI)

北海道大学・大学院理学研究院・准教授

研究者番号 : 80311546

研究成果の概要 (和文) : セスキテルペンに共通する三環性骨格をモチーフとして、縮環分子の三次元構造を多様化する合成プロセスを開発した。骨格や縮環部立体化学を系統的に改変した三環性ジエン群を簡便に合成した。これらにペルオキシド架橋を導入し、抗マラリア剤アルテミシニンアナログ群の迅速合成と構造多様化に成功した。合成した天然物類似低分子群の中から、既存の治療薬よりも強力な抗トリパノソーマ活性(*in vitro*)を発現するリードを創製した。

研究成果の概要 (英文) : To access high-quality small molecule libraries to screen lead candidates for neglected diseases exemplified by human African trypanosomiasis, we sought to develop a synthetic process that would produce collections of cyclic scaffolds relevant to an assortment of natural products exhibiting desirable biological activities. By extracting the common structural features among several sesquiterpenes including artemisinin, anthecularin and transtaganolides, we designed six types of scaffolds with systematic structural variations consisting of (i) three types of stereochemical relationships on the sp^3 ring-junctions and (ii) two distinct arrays of tricyclic frameworks. A modular and stereo-divergent assembly of dienynes exploiting a versatile manifold produced a series of cyclization precursors. Divergent cyclizations of the dienynes employing tandem ring-closing metathesis reactions overrode variant reactivities of the cyclization precursors leading to the six canonical sets of the tricyclic scaffolds incorporating a diene group. Screenings of trypanosomal activities of the canonical sets, as well as regio- and stereoisomers of the tricyclic dienes, allowed generation of several anti-trypanosomal agents defining the three-dimensional shape of the pharmacophore. The candidate tricyclic dienes were selected by primary screenings and further subjected to installation of a peroxide bridge, which generated artemisinin analogs that exhibited potent *in vitro* anti-trypanosomal activities comparable or even superior to those of artemisinin and approved drugs, suramin and eflornithine.

交付決定額

(金額単位 : 円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	8,000,000	2,400,000	10,400,000
2008 年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2009 年度	3,900,000	1,170,000	5,070,000
2010 年度	2,800,000	840,000	3,640,000
年度			
総計	18,600,000	5,580,000	24,180,000

研究分野 : 複合新領域

科研費の分科・細目 : 生物分子科学・生物分子科学

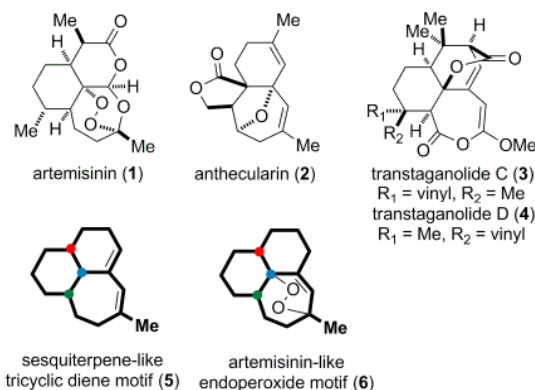
キーワード : 生理活性分子の設計・合成

1. 研究開始当初の背景

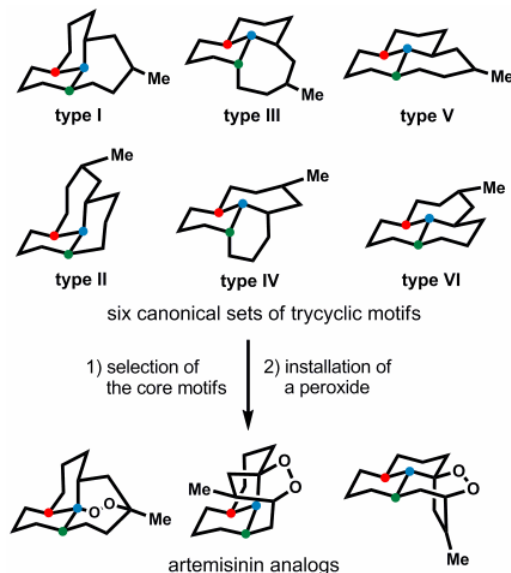
細胞機能制御分子の創製は、医薬、農薬の開発に直結し、極めて重要な基礎研究と位置付けられる。残念ながら現状では、標的とした生体高分子の機能を変調する低分子化合物の知見は依然貧弱なもので、構造生物学の発展に伴い続々と三次元構造の解明が進んでいる生体高分子の情報とのギャップが広がりつつある(“target-rich, lead poor”)。天然物の探索研究は、様々な生理活性低分子の発見をもたらしてきたが、天然資源の制限と多大な労力と時間を要することが研究の障害となっている。また、現在主流となっている天然物の全合成研究では、多段階合成に伴うコストが必要となるので、医薬関連分野やケミカルバイオロジー等への応用が限定されている。90年代から、製薬企業を中心に推進されてきたコンビナトリアル化学合成では、ヘテロ芳香環ユニットをアミド化やクロスカップリングを多用して連結する。合成コストと手間を低減しながら膨大な数の化合物群を供給することが可能となった。しかし、主に sp^2 炭素で構成される単純で平板な分子形状を持っているので、三次元的な構造の多様性に乏しいことが指摘されている。副作用の少ない創薬リード創出の観点から、複雑な凹凸の分子表面に多彩な官能基が高度に集積化され、特異性の高い分子認識能力を備えた天然物類似の低分子群の重要性が再認識されている。そこで本研究では、 sp^3 炭素含有率が高く、有望な生理活性を発現する天然物を構造モチーフとした多様性指向型合成を検討する。即ち、高度に官能化された多環性天然物を模倣しつつ、骨格と立体化学の多様性に富んだ分子群を系統的に短工程 (< 5-7 工程) で構築するプロセスを開発するものである。有機合成化学を駆使して天然物生合成の枠組みを超えた構造特性を持つ低分子群を自在かつ迅速に供給できるので、細胞機能制御分子の創製に向け、天然物の探索研究やコンビナトリアル生合成研究と相補的な新手法を提供することを実証する。

2. 研究の目的

(1) セスキテルペン類似低分子群の設計と多様性指向型合成:



Ca²⁺-ATPase を阻害するアルテミシニン (1: 抗マラリア剤)、トランスタガノライド類 (3, 4) や、抗トリパノソーマ活性を発現するアンセキュラリン 2 が構造の類似した縮環骨格を共有することに着目した。また、三環性骨格に組み込まれたジエンやペルオキシド架橋、7員環上のメチル置換基を考慮した構造モチーフ 5, 6 を設計し、天然物群 1-4 に類似した化合物ライブラリーの構築に取り組んだ。分子の造形を規定する骨格や立体化学を系統的に改変した三環性 Scaffold 群 (6 種類) を設計し、迅速に合成するプロセスの確立を目指した。



更に、骨格構築の際に組み込んだ官能基 (共役ジエン) を足掛かりにエンドペルオキシドやその等価体を導入し、構造の複雑性と酸化度を向上させたセスキテルペン類似低分子群を迅速 (< 7 工程) に構築する合成戦略を考案した。

また、数多くのセスキテルペンにみられる

アズレン型母骨格に対して、 sp^3 混成の縮環部を連続的に複数構築し、複雑なトポロジーの多環式天然物類似低分子群を供出するユニークなプロセスの開発を立案した。

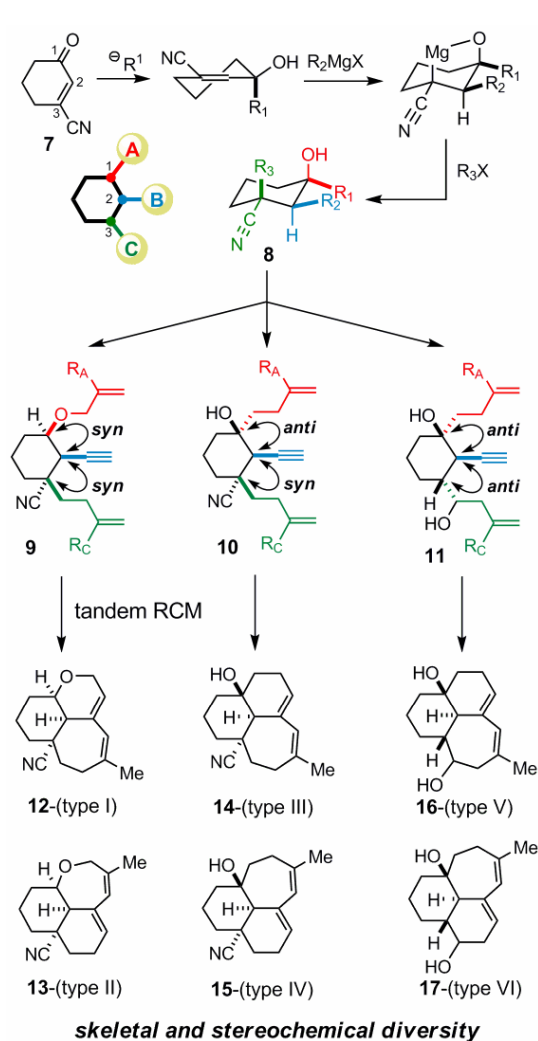
(2) 抗感染症活性物質のスクリーニング：ペルオキシド架橋を有するアルテミシニン **1** は、現在最も治療効果の高い抗マラリア剤である。また、**1** や **2** 等のセスキテルペンラクトンが抗トリパノソーマ活性を有することが報告されている。アンセキュラリン **2** はジエンを有する三環性骨格で構成され、本研究で合成する三環性ジエン群と構造類似性が高い。これらを踏まえながら、国内共同研究（北里大学熱帯病研究所）で抗原虫活性を評価する。同程度の分子量を有する化合物群を活用することで、骨格や立体化学等を指標とした構造活性相関の知見を蓄積する。高次構造を有するリード化合物の探索と同時に、活性発現に重要なファルマコフォアの三次元構造を絞り込むことが可能な独自のアプローチで、熱帯感染症のリード化合物創製を目指す。

3. 研究の方法

オキシニトリル **7** の三連続炭素にそれぞれ構築ブロック (A-C) を連結する (**7** → **8**)。まず、1 位カルボニルに求核剤を付加させ、アリールアルコールを形成する。Fleming らが報告した手法を応用し、得られた二級水酸基のキレーションを利用して共役付加を立体選択的に進行させ、環状カルバニオンを発生させる。次に、この中間体を利用するアルキル化を立体保持で進行させ、三成分を連結した **8** を高立体選択的に合成する手法を採用する。

4. 研究成果

本手法により *anti-syn* 型のジエンイン環化前駆体 **10** をワンポットで合成することに成功した。また、**8** の水酸基をアリル化、あるいは、ニトリル部位を変換してアリル基を導入することで、*syn-syn* 型 **9** や *anti-anti* 型 **11** を供給する柔軟な合成プロセスを開発した。近年、化合物ライブラリーの構築に多成分連結反応が多用されているが（論文③, ⑤）、本研究のように複数のアルボアニオン種を立体選択的に反応させるモジュラー方式の合成プロセスは稀少な成功例と言える。さらに、共通の中間体から sp^3 炭素の立体化学を系統的に改変する *Stereo-divergent* なプロセスという観点では前例が無く、先駆的なアプローチを具現化した（論文④）。ジエンイン



9-11 の連続閉環オレフィンメタセシスにより、所望の三環性ジエン群 **12-17** を網羅的に合成した。縮環部に相当する sp^3 炭素の立体化学を改変した基質群 **9-11** に対して、反応点を近傍に共存する水酸基やニトリルの影響等に起因する反応性の違いを克服しながら、共役ジエンを組み込んだ6種類の三環性骨格を全て系統的に構築することができた。また、末端オレフィンとルテニウム触媒とのカルベン錯体形成速度の差を利用して、環化モードをほぼ完全に制御し、同一分子量を持ちながら縮環様式の異なる一対の化合物 (**12/13** 等) をそれぞれ高い選択性で合成することができた。

得られた6種類の三環性ジエン **12-17** に対して、北里研究所と共同で抗原虫感染症（マラリア・トリパノソーマ）活性物質をスクリーニングした。その結果、*cis-cis* 縮環した三環性ジエン（二種: **12, 13**）が顕著な抗トリパノソーマ活性 (**12**: $IC_{50} = 0.55 \mu\text{g/mL}$, **13**: $1.1 \mu\text{g/mL}$) を発現することを見出した。選別

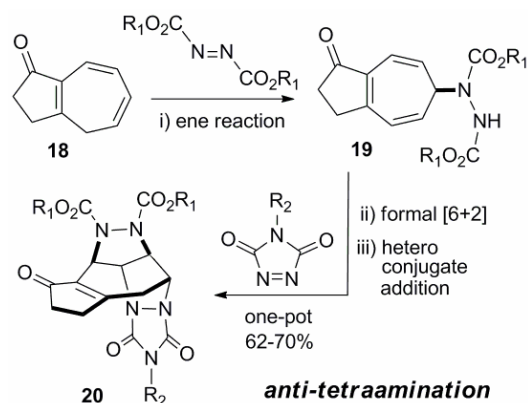
した scaffold **12**, **13** に対して、ジエン部位を異性化させた同一分子量の三環性ジエン (5 種) やラク톤を導入した化合物を合成した。これらも比較的高い抗トリパノソーマ活性 ($IC_{50} = < 4.62 \mu\text{g}/\text{mL}$) を発現したが、*cis-cis* 縮環の三環性骨格に *s-trans* 型共役ジエンを有する **12**, **13** よりも活性は低下した。

また、骨格に組み込んだ共役ジエンを一重項酸素で酸化して、アルテミシニンアナログ群を合成した。ペルオキシド架橋やその等価体 (-N-O-, -N-N-架橋) の導入位置と立体化学のバリエーションを創出することで、三次元構造の複雑性・多様性と酸化度をより向上させた低分子群を創出した。これらの中から、構造モチーフとしたアルテミシニン (**1**: $IC_{50} = 0.94 \mu\text{g}/\text{mL}$) やアンセキュラリンよりも強力な抗トリパノソーマ活性 (*in vitro*) を発現するリード化合物 ($IC_{50} = 0.16 \mu\text{g}/\text{mL}$; $0.38 \mu\text{g}/\text{mL}$) を二種類創製することに成功した。これらは、眠り病 (アフリカトリパノソーマ症) の治療薬、スラミン ($IC_{50} = 1.58 \mu\text{g}/\text{mL}$) やエフォルニチン ($IC_{50} = 2.27 \mu\text{g}/\text{mL}$) よりも強力な抗トリパノソーマ活性 (*In Vitro*) を発現することが判明した。

このように構造の新規性・複雑性・多様性を兼備した生体機能性低分子群を実際に創出することに成功し、本研究で提起した合成化学的なアプローチの実効性とポテンシャルを証明することができた。また、分子の造形を規定する構造要素を系統的に改変した天然物類似 scaffold 群を活用することで、リード化合物探索と同時に構造活性相関研究を検討し、ファルマコフォアの三次元構造を把握できることを実証した (論文①)。

上記研究と並行して、数多くのセスキテルペンにみられるアズレン型母骨格に対して、 sp^3 混成の縮環部を連続的に複数構築し、複雑なトポロジーの多環式天然物類似低分子群を合成した (論文②)。環状ジエンとジエノフィルとの [4+2] 型環状付加を順次進行させ、ステロイドに類似した骨格を構築するアプローチは、多様性指向型合成の草創期における代表的な合成戦略となっている。一方本研究では、[4+2] 型環化を採用せず、代わりに環状トリエンに対して、①エン反応、② formal [6+2] 環化、③ヘテロ共役付加をワンポットで進行させる独自の戦略を追求した。ケトンが共役したシクロヘプタトリエンに由来する **18** ならではの多彩な反応性を引き

出しながら、共役ジエンユニットの立体選択的 *anti-vic*-テトラアミノ化 (**18** → **19** → **20**) を実現した。アズレノンに 2 種類のジカルボニルアゾ化合物を順次作用させ、複雑な五環性化合物を一工程で合成することに成功した。更に、最近では、コバルト触媒による [6+2] 環化や光 [2+2] 環化、1,3-双極子を活用した [3+2] 環化等を実現し、多数の官能基を母骨格へ高度に集積化した天然物類似低分子群を創出するアプローチを検討した。



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 Oguri, H.*; Hiruma, T.; Yamagishi, Y.; Oikawa, H.; Ishiyama, A.; Otoguro, K.; Yamada, H.; Omura, S. "Generation of anti-trypanosomal agents through concise synthesis and structural diversification of sesquiterpene analogs" *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7096-7105. 査読有 *Selected for the Front Cover*.
- ② Ishigaki, Y.; Mahendar, V.; Oguri, H.*; Oikawa, H. "An anti-tetraamination of a 1,3-diene unit via cascade annulations of the azulene scaffold with dicarbonyl azo-compounds" *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 3304-3305. 査読有
- ③ Mizoguchi, H.; Oguri, H.*; Tsuge, K.; Oikawa, H. "Divergent and Expedient Access to Fused Skeletons Inspired by Indole Alkaloids and Transtaganolides" *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3016-3019. 査読有

- ④ **Oguri, H.***; Yamagishi, Y.; Hiruma, T.; Oikawa, H. “Skeletal and Stereochemical Diversification of Tricyclic Frameworks Inspired by Ca²⁺-ATPase Inhibitors, Artemisinin and Transtaganolide D” *Org. Lett.* **2009**, *11*, 601-604. 査読有

- ⑤ **大栗博毅** “低分子ライブラリー構築の新戦略：三次元構造多様性を如何にして創出するか？” 化学と生物、46巻、9月号 594-597頁 (2008) 査読無.

[学会発表] (計5件)

- ① **Oguri, H.** “Concise synthesis and structural diversification of natural product analogs inspired by indole alkaloids and anti-protozoal terpenes” Pacificchem 2010 Organic Division, Session (Diversity-Oriented Synthesis) 2010. 12. 19, Hawaii, USA

- ② **Oguri, H.** “Expeditious Access and Structural Diversification of Natural Product Analogs Inspired by Triostins, Saframycins, Artemisinins, and Indole Alkaloids” (plenary lecture) Mona Symposium: Natural Products & Medicinal Chemistry, 2010. 1. 5. Kingston, Jamaica

- ③ **大栗博毅** “細胞機能制御を志向した天然物類似低分子ライブラリーの短段階合成、構造多様化” 招待講演「化学と生命のかけはし」東京大学大学院工学系研究院化学生命工学専攻, 2009. 9. 28. 本郷、東京

- ④ **Oguri, H.**; Hiruma, T.; Mizoguchi, H.; Yamagishi, Y.; Oikawa, H. “Expeditious Access to Natural Product Analogs Employing Versatile Scaffolds: Systematic Diversification of Ring-junctions and Divergent Cyclizations” (invited lecture) Combinatorial Chemistry and Chemical Biology toward A New Paradigm for Drug Discovery (CCCB), 2009. 9. 24. Osaka, Japan

- ⑤ **Oguri, H.** “Chemical Biology Using Small Molecules as Chemical Probes” JGFoS2007 日独先端科学会議 (アレキサンダーフンボルト財団・日本学術振興会)、招待講演 2007. 11. 2, Shonan Village Center, Kanagawa, Japan.

[その他]

ホームページ等

<http://www.cris.hokudai.ac.jp/cris/sousei/research/innovative/oguri/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大栗 博毅 (OGURI HIROKI)

北海道大学・大学院理学研究院・准教授

研究者番号：80311546

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし