

平成 23 年 6 月 3 日現在

研究種目：若手研究 (B)

研究期間：2009～2010

課題番号：21790117

研究課題名 (和文) Atpenin A5 を基盤とした多角的な新規抗寄生虫薬の創製研究

研究課題名 (英文) Synthesis and structure activity relationship of atpenin A5 derivatives as complex II inhibitors

研究代表者

大多和 正樹 (OHTAWA MASAKI)

北里大学薬学部・助教

研究者番号：70453503

研究成果の概要 (和文) : Complex II 選択的阻害剤 atpenin A5 の網羅的な構造活性相関研究ならびに、carboxin/flutolanil の部分構造を有するキメラ型 atpenin 誘導体の設計・合成を行い新規抗寄生虫薬の創製を目指した。いずれも著者らが確立した atpenin A5 の全合成経路を応用する事で、効率的に種々の誘導体合成を行うことができた。今回開拓した合成経路は多種多様な誘導体合成にも適用可能であり、atpenin A5 を基盤とした新規抗寄生虫薬創製へ向けた基礎を構築した。

研究成果の概要 (英文) : Comprehensive structure activity relationship of atpenin A5 as a potent complex II inhibitor and the synthesis of atpenin A5 / flutolanil chimeric inhibitors has been achieved. On the guidance of this study, we also constructed a potential basis for the discovery of atpenin A5 derivatives as novel antihelminth agents.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2010 年度	900,000	270,000	1,170,000
年度			
年度			
年度			
総計	1,900,000	570,000	2,470,000

研究分野：有機合成化学、医薬化学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：天然有機化合物、生理活性物質、構造活性相関

1. 研究開始当初の背景

寄生虫症は感染者数が延べ 40 億人以上と世界で最も患者数の多い疾患であり、最近では寄生虫症による死者は世界中で 300 万人近いと言われる。しかし近年、現在用いられている抗寄生虫薬の耐性種の出現が見られ、その数は増加傾向にある。このように寄生虫症対策は代表的な寄生虫症であるマラリア等

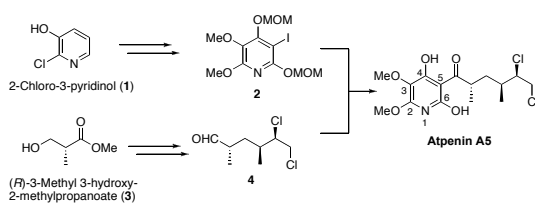
が蔓延している発展途上国のみならず、近年寄生虫症が増加傾向にある先進国においても重要な課題になっている。そこで従来とは異なる作用機序を有し、耐性種にも有効な抗寄生虫薬の開発は急務と言える。

寄生虫は哺乳類とは異なる嫌気的な電子伝達経路を有するため、これを特異的に阻害する物質は、選択性の高い抗寄生虫薬となり

得る可能性を有する。そこで北里大学北里生命科学研究所において、微生物培養液を対象に電子伝達経路の一部を担う complex II 阻害物質の探索が行われた。その結果、以前同研究所で他の生理活性を有する物質として単離、同定されていた atpenin A5 (*J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1553. **Scheme 1**) が強力な寄生虫 complex II 阻害活性を有することが明らかとなった (IC_{50} : 0.012 μ M)。しかし atpenin A5 は哺乳類 complex II にも阻害活性を示し種選択性が低かったものの、その強力な complex II 阻害活性は様々な分野の多くの研究者により利用されており、現在までに atpenin A5 と大腸菌 complex II との結合様式も解明されている (*J. Biol. Chem.* **2006**, *281*, 7309.)。更にブタ回虫 complex II の構造解析および atpenin A5 との共結晶 X 線構造解析が行われており (研究協力: 東大、京都工繊大)、atpenin A5 は今後の新規抗寄生虫薬としてのリード化合物としてのみならず、寄生虫/哺乳類 complex II 選択性を議論するうえでの重要な生化学的ケミカルツールとしても重視されている。しかしながら低生産性のため培養による atpenin A5 の供給は現在のところ容易ではない (*J. Antibiot.* **1990**, *43*, 1553.)。そこで申請者はそのような問題を解決すべく atpenin A5 の全合成研究に着手し、その初のエナンチオ選択的全合成を達成し atpenin A5 の化学的大量供給を可能とし (Ohtawa, M. *et al. J. Antibiot.*, **2009**, *62*, 289., **Scheme 1**)、現在申請者らにより合成した atpenin A5 が BioLinks 社より市販されている。Atpenin A5 の全合成は対応するテトラアルコキシピリジン **2** と側鎖アルデヒド **4** を個々に合成しカップリングするコンバージェントな合成法を用いており、それぞれの部位を適宜構築しカップリングすることで、後述の多様な誘導体を効率よく合成することが可能である。

2. 研究の目的

前述の通り atpenin A5 の抱える問題点として、哺乳類と寄生虫との選択性の低さが挙げられる。よって本研究は新規抗寄生虫薬の創製を目指す上で、抗寄生虫活性の向上を目的とするのみならず、寄生虫選択性の向上も大きな目標である。そこで現在農薬として用いられている flutolanil に注目した。近年 flutolanil は atpenin A5 と比べその活性は低いものの寄生虫 complex II を選択的に阻害することが明らかとなり、また flutolanil と同様の



Scheme 1. Total synthesis of atpenin A5

骨格を有する carboxin と大腸菌 complex II の X 線結晶構造解析が既に報告されている。(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100* 1 473.)。これらの知見によると、atpenin A5 は ubiquinone のアナログとして ubiquinone 同様の結合様式で標的タンパクと相互作用するが、carboxin は ubiquinone/atpenin A5 の側鎖の

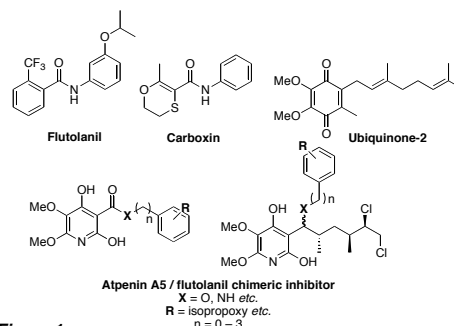


Figure 1

結合部位とは異なる部位と相互作用する。従って carboxin 結合領域が選択性向上の鍵となる部位の一つであると考えられる。これらの知見を基に、carboxin ならびに ubiquinone/atpenin A5 両結合部位に作用し活性・選択性の向上を期待したキメラ型 atpenin 誘導体を設計した(**Figure 1**)。

また側鎖の構造が異なる atpenin 類縁体は atpenin A5 に比べ大きく活性が低下することから(*Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2003**, *100*, 473.)、ubiquinone/atpenin A5 結合領域(特に側鎖部位)においても選択性ならびに活性上昇の余地があると見られる。そこで基礎的な atpenin A5 の構造活性相関研究にも興味を持たれる。

従って本研究では atpenin A5 の構造活性相関研究ならびに、carboxin, flutolanil の部分構造を有するキメラ型 atpenin 誘導体 (**Figure 1**) の合成・活性評価を行い、有機化学的に寄生虫 complex II 選択性ならびに活性向上の知見を多角的に得ることを計画している。得られた知見からさらなる優れた誘導体の設計・合成を行い、atpenin A5 をリードとした実用的な寄生虫 complex II 選択的な新規抗寄生虫薬の創製を最終目標としている。

3. 研究の方法

Atpenin A5 をリード化合物とした寄生虫 complex II 選択的阻害薬(新規抗寄生虫薬)創製のために、2つの方向性で研究を進めて行くこととした。1つは著者が確立した atpenin A5 の全合成経路を応用し、atpenin A5 の構造活性相関研究を行い、ubiquinone/atpenin A5 結合領域での阻害活性及び寄生虫選択性に関する知見を得ることを目的とする。

もう1つの方向性として、carboxin/flutolanil の部分構造を有するキメラ型 atpenin 誘導体の設計・合成を行う。即ち、寄生虫 complex II 選択性向上の鍵となる部位に結合する

carboxin や flutolanil の置換フェニル基を持つ atpenin 類誘導体の合成を行う事とした (Figure 1)。

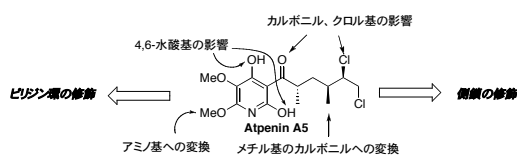


Figure 2. Atpenin A5の構造活性相関

4. 研究成果

Atpenin A5 をリード化合物とした寄生虫 complex II 選択的阻害剤(新規抗寄生虫薬)創製のために、2つの方向性(atpenin A5 の構造活性相関研究、キメラ型 atpenin 誘導体の設計・合成)で研究を進めた。

【1】 まずはじめに、申請者が確立した atpenin A5 の全合成経路を応用し、atpenin A5 の構造活性相関研究を行った。ここでは側鎖、ピリジン環の構造活性相関を網羅的に行うことにより、ubiquinone/atpenin A5 結合領域での阻害活性及び寄生虫 complex II 選択性に関する知見を得ることを目的とする。

ピリジン環部については、6-位水酸基の必要性の確認を目的とした 6-O-メチル体 (5)、6-デヒドロキシ体 (6)、ならびに寄生虫の電子伝達物質である rhodoquinone (哺乳類の電子伝達物質である ubiquinone の2-位がアミノ基に置換されている) を模倣することで寄生虫選択性向上を期待した 2-アミノ誘導体 (9) をはじめとする数種の新規誘導体を設計し、それらの合成を行った。2-アミノ誘導体は、市販の 2-nitro-3-methoxypyridine (7) を出発原料とし、atpenin A5 と同様にピリジン環に順次官能基を導入していくことで、11 工程総収率 3.5% で合成を達成した。(Figure 3)

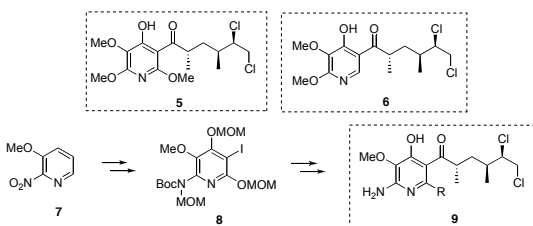
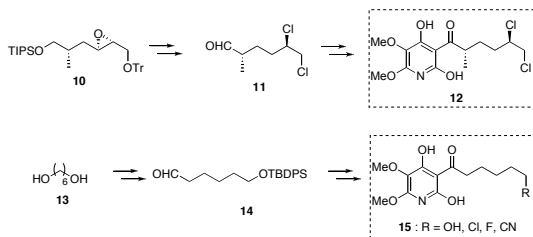


Figure 3

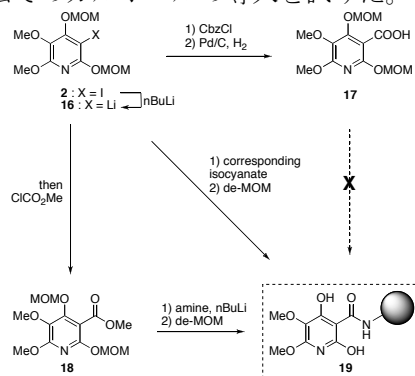
側鎖部については、まず側鎖 4'-位メチル基の除去した atpenin A5 誘導体の合成を行った。Atpenin A5 全合成における側鎖中間体 10 から、LiEt₃BH による位置選択的なエポキシドの開環等を経て容易に導く事の出来るアルデヒド 11 と、ヨードピリジン 2 をカップリングし、酸化脱保護を経て目的の誘導体を合成した。また側鎖を簡素化した誘導体 15 は、1,6-ヘキサンジオール (13) から導いたアルデヒド 14 とヨードピリジン 2 をカップリングし、その後側鎖末端に種々の官能基を導入

し合成した。(Scheme 2)



Scheme 2

【2】 続いて、carboxin/flutolanil の部分構造を有するキメラ型 atpenin 誘導体の設計・合成を行った。寄生虫 complex II 選択性向上の鍵となる部位に結合する carboxin や flutolanil の置換フェニル基を持つ atpenin 類誘導体の合成を行った (Scheme 3)。当初の計画では、ヨードピリジン 2 の5位にカルボキシル基を導入した後、種々のアミンと縮合することで目的のキメラ型 atpenin 誘導体を合成する計画だった。しかし、2 のリチオ化後、CO₂ を用いたカルボキシル基の導入、若しくはアルデヒドを導入後酸化してカルボン酸への変換を試みたが、いずれも満足する結果は得られなかった。そこで別法でのカルボニルの導入を試みた。



Scheme 3

即ち 16 にクロロギ酸ベンジルを加え、5-位にベンジルオキシカルボニル基を導入し、その後ベンジル基を除去することで5-カルボキシルピリジンの合成を行った。得られた5-カルボキシルピリジンに対し種々のアミンと縮合を行った。しかし多くの縮合法を試みたものの目的の化合物は得られなかった。そこで 2 のリチオ化後、対応するイソシアネートを作作用させることで、5-位にアミド側鎖を有するキメラ型 atpenin 誘導体の合成を達成した。本法にて3種の誘導体を合成したものの、対応するイソシアネートの調製が煩雑であり、より効率的な合成法を構築することとした。即ち 16 に、クロロギ酸メチルを作用させメチルエステルとし、対応するリチウムアミドと反応させることで目的のキメラ型 atpenin 誘導体

(19) が簡便に合成できることを見出した。

現在構築された経路に従い種々の誘導体の合成を行っており、数種の誘導体は活性測定中である。今後誘導体群の活性評価により構造活性相関が明らかとなり、その情報に基づいて更なる誘導体合成を進める事で、優れた寄生虫 complex II 選択的な誘導体を創製することができると考えられる。

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)

Enantioselective total synthesis of atpenin A5. Ohtawa, M.; Ogihara, S.; Sugiyama, K.; Shiomi, K.; Harigaya, Y.; Nagamitsu, T.; Ōmura, S. *J. Antibiot.*, **2009**, 62, 289-294. (査読有)

[学会発表] (計 3 件)

杉山晃平 (大多和正樹)、Fumarate reductase 阻害剤 atpenin 類の全合成ならびに構造活性相関研究、第 28 回メデイシナルケミストリーシンポジウム、2009 年 11 月 25-27 日、東京大学安田講堂 (東京)

杉山晃平 (大多和正樹) Enantioselective total synthesis of atpenin A5 and its analogues . The 11th International KYOTO conerence on New Aspects of Organic Chemistry. 2009年1月9-13日、リーガロイヤルホテル京都 (京都)

杉山晃平 (大多和正樹)、NFRD 阻害剤 atpenin 類の全合成ならびに構造活性相関研究、日本薬学会第 130 年会、2010 年 3 月 28-30 日、桃太郎アリーナ (岡山)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大多和 正樹 (OHTAWA MASAKI)

北里大学薬学部・大学院薬学研究科・助教
研究者番号：70453503

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：