

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 3 日現在

機関番号：36102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23590033

研究課題名(和文)アルツハイマー病治療薬の開発を目指したネオビブサニン類の作用機序の解明

研究課題名(英文)Studies of the mechanisms of action of neovibsanins toward the development of therapeutic agents for Alzheimer's disease

研究代表者

今川 洋 (Imagawa, Hiroshi)

徳島文理大学・薬学部・教授

研究者番号：80279116

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円、(間接経費) 1,200,000円

研究成果の概要(和文)：1996年、福山らによって、スイカズラ科の植物サンゴジュより単離構造決定されたネオビブサニン型テルペン類は、神経栄養因子NGFの活性を増強する作用を有し、アルツハイマー病の治療薬のリード化合物として期待されている。しかしながら、その活性発現機構は未だ明らかになっていない。私達は、ネオビブサニン類の詳細な構造活性相関を明らかにすると共に、活性を保持した光親和性標識体の合成を行うことで、ネオビブサニンが相互作用する生体内の標的分子の同定に貢献すべく研究を行った。その結果、活性発現に必須な最小構造単位に対して、修飾可能な位置を明らかにすると共に、ビオチン部を持つ光親和性標識化合物の合成に成功した。

研究成果の概要(英文)：Neovibsanins were originally isolated from *Viburnum awabuki* by Fukuyama and co-workers in 1996. These natural products were found to display neurite outgrowth activity in PC12 cells, suggesting neovibsanin-type compounds could be promising candidates for the development of novel therapeutic agents to treat Alzheimer-type dementia. However, the detailed mechanism for the activity is still unknown. We carried out the syntheses of several kinds of neovibsanin derivatives on the basis of the tricyclic acetal which is a minimum essential structure expressing the activity, to clarify the detailed structure-activity relationship of neovibsanins. As the results, it was revealed that the C11 of neovibsanin skeleton is a suitable position for the substitution with photoaffinity-functional group. On the basis of these knowledge, the synthesis of the photoaffinity-labeled neovibsanin derivative, which is useful in order to find the target molecules having an affinity for neovibsanin, was achieved.

研究分野：有機合成化学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：有機化学 生物活性 アルツハイマー病 神経科学 薬学 光親和性標識

1. 研究開始当初の背景

日本人の死因のトップは、長年心疾患であったが、近年では男女とも悪性新生物、すなわち癌がその座を奪って久しい。国民の3割は癌で亡くなるのであるが、何とか癌になることを免れたとしても、次に来る関門は痴呆、すなわち「認知症」である。65歳では15%、85歳以上では、40%の国民がアルツハイマー型を始めとする認知症を煩う事となる。これは他人事では済まされない深刻な事実である。すなわち、優れた認知症治療薬は、現代日本における時代のニーズであることは疑いようが無い。

アルツハイマー病の進行に伴って、徐々に減少する神経活動を補う目的で、神経伝達物質であるアセチルコリンの分解を抑える、アセチルコリンエステラーゼ阻害剤のドネペジルが、我が国では、これまで効果的かつ唯一の治療薬として用いられてきた。しかしながら、その効果は使用期間が長くなるにつれ減弱し、平均すると症状の進行を約30週程度遅らせることが出来るに過ぎない。患者家族からは、新たな治療薬の登場が切望されているのは言うまでも無い。

一方、神経突起の伸展を司る内在性の神経栄養因子 (NGF, BDNF) は、アルツハイマー病の病状の進行によって起こる神経突起の退縮を食い止めたり、回復させたりする可能性が考えられ、実際に臨床試験も行われている。しかしながら、タンパク質である神経栄養因子は、当然ながら血液-脳関門を通過し難く、治療のためには、頭部を開いて、薬物を直接脳に投与するしか方法が無く、患者の負担とリスクから実用化には至っていない。このような背景のもと、有機低分子に神経栄養因子の活性を増強するものがもし有れば、それらは有望な、アルツハイマー型認知症を始めとする、神経変性疾患の治療薬となる可能性が期待された。

2. 研究の目的

徳島文理大学薬学部の福山らによって、スイカズラ科の植物サンゴジュより単離構造決定された、ネオビブサニン型テルペン類は、神経栄養因子 NGF (及び BDNF) の活性を増強する作用を有し、アルツハイマー病の治療薬のリード化合物として期待されている。リード化合物からより活性の高い誘導体を見出すには、活性化化合物の修飾や単純化などの構造改変を行うのが常套手法であるが、一方で、何らかの手法で生体内での受容体となる分子の特定に成功すれば、すなわち、活性分子と生体内受容体分子の相互作用を分子レベルで解析することが出来れば、より論理的な分子設計が可能となり、高活性な誘導体を効率よく設計できる可能性が高まる。本研究では、未だその活性発現機構が不明なネオビブサニン類の標的受容体を解明することを目的に、詳細な構造活性相関を明らかにすると共に、活性を維持した光親和性標識体の合成を目指した。

3. 研究の方法

私達は、これまでにDMI(1,3-ジメチル-2-イミダゾリジノン)を用いるDiels-Alder反応、保護基の配位効果を利用した立体選択的アルキル化反応を利用して、初のネオビブサニンB (1)の全合成に成功している。(図1, Imagawa, H.; Saijo, H.; Kurisaki, T.; Yamamoto, H.; Kubo, M.; Fukuyama, Y.; Nishizawa, M. *Org. Lett.* **2009**, *11* (6), 1253-1255.)

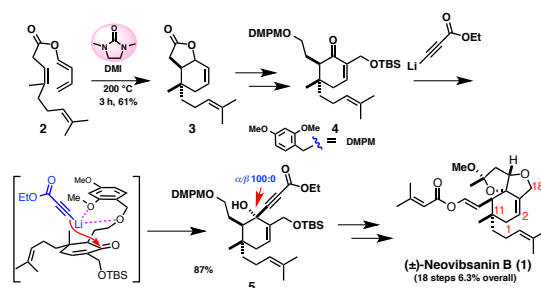


図1 ネオビブサニンBの全合成

また、種々の誘導体を合成してその活性を評価することで、活性発現に必要な最小構造単位が、アルケンを含む三環性アセタール **11**

であることを明らかにしている。(図2)

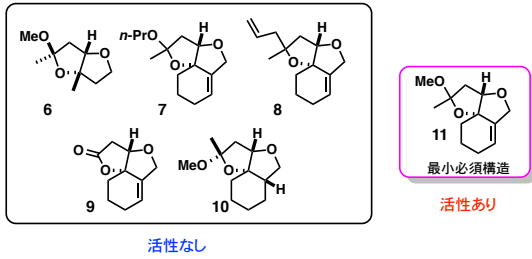


図2 構造活性相関

光親和性標識体の合成に当たって、活性分子部位には、この活性最小単位の三環性アセタール **11** を用い、これを基盤として光親和性標識の導入を行うことにした。

4. 研究成果

11 のアセタール部への嵩だかい置換基の導入は、活性を消失させることがすでに明らかになっている。その一方で、天然物の 10 位に当たる位置に蛍光標識を導入した化合物 **12** は、強い活性を保持していることも明らかにしている。すなわち 10 位への光親和性官能基の導入が適当であると考えられた。しかし、10 位に置換基を持つ **12** の母格の合成には十数段階を要する上、収率が低い段階があり、より効率的に合成できる誘導体を見つけ出す必要があると考えた。(図3)

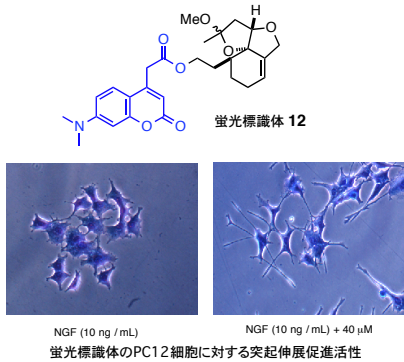


図3 10位に蛍光標識を持つ誘導体 **12** の構造と活性

そこで、より簡便な合成ルートがデザインできる、新たな位置に置換基を持つ誘導体を見つけ出すことにした。まず活性を損なわず、標識を導入できる位置を明らかにするため、活性な三環性アセタール **11** の様々な位置に置換基を導入した誘導体を合成し、その活性

評価を行うことにした。(図4)

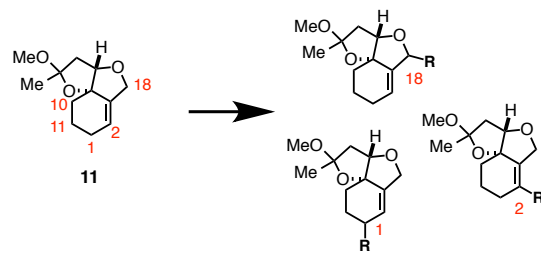


図4 活性誘導体への置換

天然物の 18 位にあたる位置に置換基を有する誘導体の合成は、シクロヘキサノン (**14**) の森田-ベイリス-ヒルマン反応によって導いたケトアルコール体 **15** を利用した。すなわち、**15** のアルコール部を TBS 基で保護した後、アセチリドの付加を行い、得られたジアステレオマー混合物を分離後、主生成物 **17A** のアルキンを Red-Al にて還元、TBS 基を脱保護する事で、oxy-Michael 付加反応が進行し、三環性ラクトン **19A** に導けた。続いて、Tebbe 試薬で処理後、粗製生物をメタノール中、PPTS で処理すると、アセタール化が進行し、18 位にフェニル基を有する三環性アセタール **13A** が合成出来た。また同様にマイナー生成物 **17B** からは **13B** に導けた。(図5)

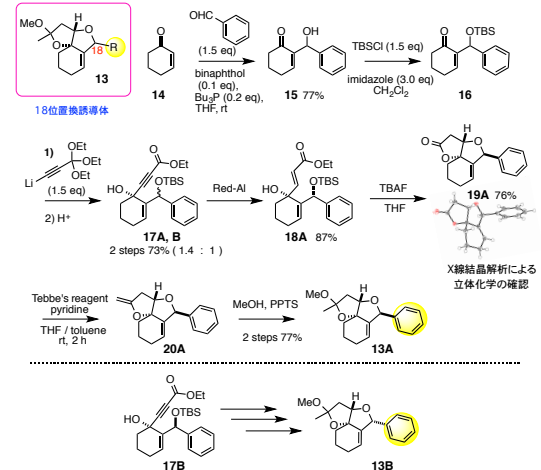


図5 18位置換誘導体の合成

次に、天然物の 2 位に様々な置換基を有する誘導体の合成を検討した。文献に従って合成した環状アセタール **23** を原料に、各種アルキル化試薬を付加させて、アルコール体とした後、アセタール部を加水分解すると、脱水反応も同時に進行して、環状エノン体 **24A-D**

に導いた。生じた一級アルコールを TBS 基で保護した後、先と類似のルートにて合成を進めた。すなわちアルキニル化後、生じたアルコール体 **26A-D** を Red-Al にて還元、TBS 基の脱保護に続く oxy-Michael 付加反応にて、三環性ラクトン **28A-D** に導いた。続いて Tebbe 試薬による処理、アセタール化を行い、2 位に各種アルキル基を有する三環性アセタール **21A-D** を合成した。(図 6)

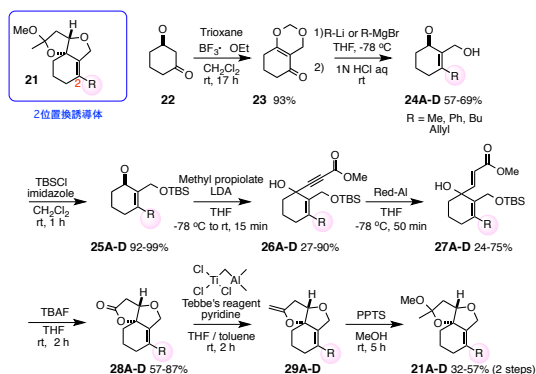


図6 2位置換誘導体の合成

一方、天然物の 1 位に当たる位置に置換基を有する誘導体は、以下のように合成した。(図 7) すなわち、文献既知の環状エノン **23** を原料に、リチオ化後、臭化プロパルギルを用いてアルキル基を導入、ケトン還元し、アセタールを脱保護することにより、ケトアルコール **33** に導いた。水酸基を TBS 基で保護した後、先と類似のルートにて合成を進め、1 位にプロパルギル基を有する三環性アセタール **30** が合成できた。(図 7)

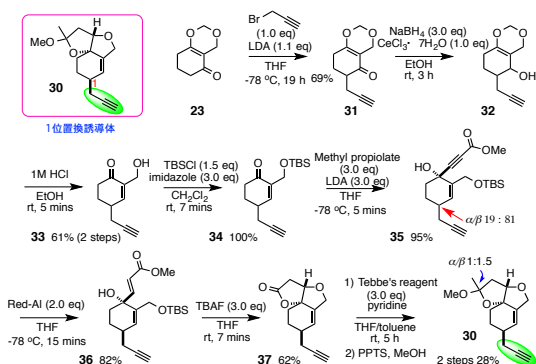


図7 1位置換誘導体の合成

ここで、合成できた誘導の神経突起伸展促進活性を PC12 細胞を用いて確認したところ、18 位にフェニル基を有する誘導体は、全く活

性を示さなかった。また 2 位に各種アルキル基を持つ誘導体も活性を示さなかった。すなわち 18 位もしくは 2 位への標識の導入は、適当では無いことが明らかとなった。一方、天然物の 1 位に当たる位置に置換基を有する **30** は、無置換のものとは比べやや減弱するものの、活性を保持していることが明らかとなった。これらの結果から、活性の強さにやや不安を残すものの、**30** を用いて光親和性標識体を合成することは可能であると考えられた。

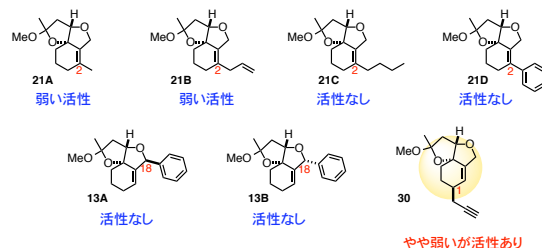


図8 各種誘導体の活性評価

一方、天然物に元々置換基がある、11 位であれば、活性を減弱させること無く、官能基を導入出来る可能性がある。そこで、新たに化合物 **38** をデザインし、その合成を行った。(図 9) プロパルギオールから導いた **39** に対して、プロパルギルエーテルの導入を行い、脱保護後、酸化して **42** に導いた。Wittig 反応でエ

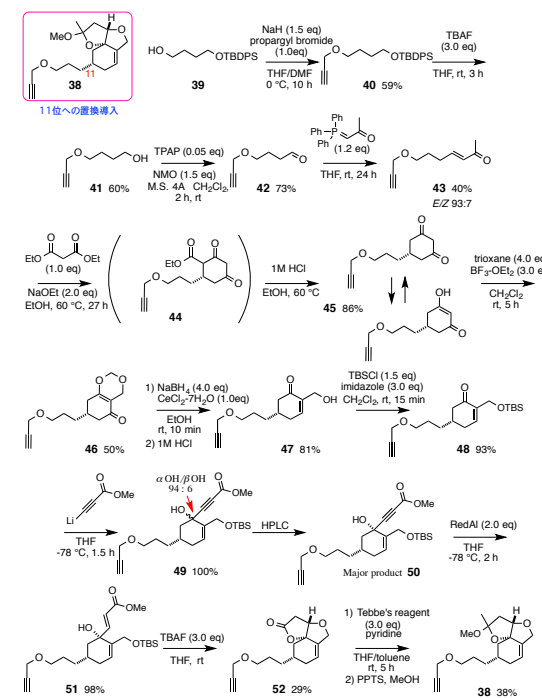


図9 11位置換誘導体の合成

ノン **43** とした後、マロン酸エステルを Michael 付加させると、分子内クライゼン縮合型反応が進行し、酸処理により脱炭酸して、環状ジケトン **45** が得られた。得られた **45** をトリオキサン存在下、 BF_3 で処理し、環状アセタール **46** とした。還元、脱保護を経て、環状エノン **47** に導いた。**47** からこれまでと同様のルートにより、10 位にプロパルギル基を有する三環性アセタール **38** が合成できた。(図 9)

次いで、光親和性標識部の合成を行った。光親和性標識部には、取り扱い易さを考慮して、ベンゾフェノンとすることにした。4, 4'-ジヒドロキシベンゾフェノンを原料に、数段階を経て、アジドアルコール体 **57** とした。**57** のアルコール部を炭酸エステルに導いた後、ビオチンから導いたアミン **59** を反応させると、縮合反応が進行し、アミド体 **60** が得られた。最後に **60** のアジド部と、三環性アセタール **38** のアルキン部との間で、Huisgen 反応を行い、光親和性標識部位を持つ、目的のネオビブサニン誘導体 **61** の合成を完了した。現在 **61** を用いた、標的タンパク質の検出実験を検討中である。(図 10)

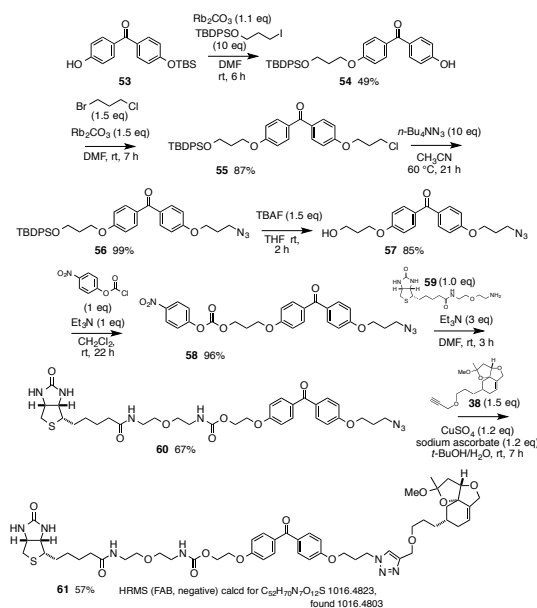


図10 光親和性標識体の合成

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 12 件)

平成 25 年度

1. Novel inhibitor of bacterial sphingomyelinase, SMY-540, developed based on three-dimensional structure analysis, M. Oda, H. Imagawa, R. Kato, K. Yabiku, T. Yoshikawa, T. Takemoto, H. Takahashi, H. Yamamoto, M. Nishizawa, J. Sakurai, M. Nagahama, *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, **2013**, Ahead of Print 1-8.
2. Concise synthesis of a probe molecule enabling analysis and imaging of vizantin, H. Yamamoto, M. Oda, M. Nakano, K. Yabiku, M. Shibutani, T. Nakanishi, M. Suenaga, M. Inoue, H. Imagawa, M. Nagahama, Y. Matsunaga, S. Himeno, K. Setsu, J. Sakurai, M. Nishizawa, *Chem. Pharm. Bull.* **2013**, *61*(4) 452-459.
3. Development of vizantin, a safe immunostimulant, based on the structure-activity relationship of trehalose-6,6'-dicorynomycolate, H. Yamamoto, M. Oda, M. Nakano, N. Watanabe, K. Yabiku, M. Shibutani, M. Inoue, H. Imagawa, M. Nagahama, S. Himeno, K. Setsu, J. Sakurai, M. Nishizawa, *J. Med. Chem.* **2013**, *56*, 381-385.
4. Yellow pigments, fomitellanol A and B, and drimane sesquiterpenoids, cryptoporin A and B, from *fomitella fraxinea* and their inhibitory activity against COX and 5-LO, K. Yoshikawa, K. Koso, M. Shimomura, M. Tanaka, H. Yamamoto, H. Imagawa, S. Arihara, T. Hashimoto, *Molecules*, **2013**, *18*, 4181-4191.

平成 24 年度

1. Carbon-nitrogen bond formation between allyl silyl ether and hydrazide promoted by mercuric triflate catalyst, Yamamoto, N. Yamasaki, S. Yoshidome, I. Sasaki, K.

- Namba, H. Imagawa, M. Nishizawa, *Synlett*, **2012** 23(7), 1069-1073
2. A Carbaboranylmercuric Salt Catalyzed Reaction; Highly Regioselective Cycloisomerization of 1,3-Dienes, H. Yamamoto, I. Sasaki, S. Shiomi, N. Yamasaki, H. Imagawa, *Org. Lett.* **2012**, 14 (9), 2266-2269.
 3. Phenanthrene Derivatives from Cymbidium Great Flower Marie Laurencin and Their Biological Activities, K. Yoshikawa, T. Ito, K. Iseki, C. Baba, H. Imagawa, Y. Yagi, H. Morita, Y. Asakawa, S. Kawano, T. Hashimoto, *J. Natural Products*, **2012**, 75(4), 605-609.
 4. Syntheses of Structurally-simplified and Fluorescently-labeled Neovibsanin Derivatives and Analysis of their Neurite Outgrowth Activity in PC12 cells, H. Imagawa, H. Saijo, H. Yamaguchi, K. Maekawa, T. Kurisaki, H. Yamamoto, M. Nishizawa, M. Oda, M. Kabura, M. Nagahama, J. Sakurai, M. Kubo, M. Nakai, K. Makino, M. Ogata, H. Takahashi, Y. Fukuyama, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2012**, 22, 2089-2093.
- 平成 23 年度
1. Synthesis of Chiral and Modifiable Hexahydroxydiphenyl Compounds, Asakura, N.; Fujimoto, S.; Michihata, N.; Nishii, K.; Imagawa, H.; Yamada, H. *J. Org. Chem.*, **2011**, 76, 9711-9719.
 2. An Efficient Pyrrole Synthesis via Silaphenylmercuric Triflate-Catalyzed Cyclization of Homopropargyl Azides, H. Yamamoto, I. Sasaki, M. Mitsutake, A. Karasudani, H. Imagawa, M. Nishizawa, *Synlett*, **2011**, (19) 2815-2818.
 3. Halichonines A, B, and C, Novel Sesquiterpene Alkaloids from the Marine Sponge *Halichondria okadai* Kadota. O. Ohno, T. Chiba, S. Todoroki, H. Yoshimura, N. Maru, K. Maekawa, H. Imagawa, K. Yamada, A. Wakamiya, K. Suenaga, D. Uemura, *Chem. Commun.*, **2011**, 47, 12453-12455.
 4. Intermolecular Amination of Allyl Alcohols with Sulfamates: Effective Utilization of Mercuric Catalyst. H. Yamamoto, E. Ho, I. Sasaki, M. Mitsutake, Y. Takagi, H. Imagawa, M. Nishizawa, *Eur. J. Org. Chem.*, **2011**, 2417-2420.
- [学会発表] (計 3 件)
1. 光親和性標識を持つネオビブサニン誘導体の合成 山口仁美, ○小松加奈, ○柳井 翠, 杉本実希子, 葛西祐介, 久保美和, 山本博文, 福山愛保, 今川 洋, 日本薬学会第 134 年会 (熊本) 2014. 3. 27-30.
 2. Syntheses of Structurally-simplified Neovibsanin Derivatives and Analysis of their Neurite Outgrowth Activity. Hiroshi Imagawa, Hayato Saijo, Hitomi Yamaguchi, Ken Maekawa, Takahiro Kurisaki, Hirofumi Yamamoto, Mugio Nishizawa, Masataka Oda, Michiko Kabura, Masahiro Nagahama, Jun Sakurai, Miwa Kubo, Megumi Nakai, Kosho Makino, Mitsuko Ogata, Hironobu Takahashi, Yoshiyasu Fukuyama. 23rd French-Japanese Symposium on medicinal and fine chemistry (第 23 回日仏医薬精密化学会議, 長崎) 2013. 5. 12-15
 3. 光親和性標識を持つネオビブサニン誘導体の合成研究, 今川 洋, ○山口仁美, 前川 健, 杉本実希子, 西條速人, 栗崎貴啓, 山本博文, 西澤麦夫, 小田真隆, 永浜政博, 櫻井 純, 久保美和, 牧野宏章, 福山愛保, 日本薬学会第 132 年会 (札幌) 2012. 3. 28-31
- [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] なし
6. 研究組織
 - (1) 研究代表者
今川 洋 (IMAGAWA Hiroshi)
徳島文理大学・薬学部・教授
研究者番号: 80279116
 - (2) 研究分担者 なし
 - (3) 連携研究者 なし