

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 7 日現在

機関番号：13201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460010

研究課題名(和文)天然物ハイブリッド化を基軸とした新規神経系賦活薬剤の設計、合成、構造活性相関研究

研究課題名(英文) Design, Synthesis, and Structure-Activity Relationship Study of Novel Neuro-Protecting Drugs Based on Natural Product Hybridization

研究代表者

松谷 裕二 (Matsuya, Yuji)

富山大学・大学院医学薬学研究部(薬学)・教授

研究者番号：50255858

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：アルツハイマー型認知症治療を指向した新規神経系賦活薬剤の開発を目指し、ステロイド型天然物「デノソミン」とその想定される分子標的受容体である「ビタミンD3」とのハイブリッド化による薬物設計を行った。その合成については、パラジウム触媒カップリングによる収束的合成法にて効率よく達成された。合成したハイブリッド化合物は脳神経保護作用の薬理活性試験に付され、親化合物であるデノソミンを上回る活性を示す新規誘導体を見出すことができた。

研究成果の概要(英文)：Novel hybridization compounds between steroidal natural product "denosomin" and its potential molecular target receptor "vitamin D3" were designed for the purpose of development of novel neuro-protecting agent toward Alzheimer disease chemotherapy. The syntheses were achieved by means of convergent synthetic strategy using palladium-catalyzed coupling reactions. The synthesized hybrid compounds were subjected to assay for their neuro-protecting activity, and new derivatives showing more potent activity than positive control compound "denosomin" were discovered.

研究分野：有機化学

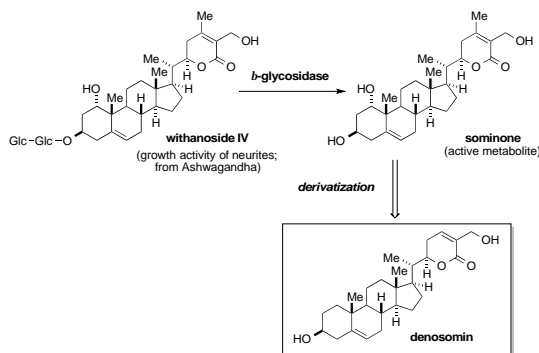
キーワード：ハイブリッド化 天然物 神経賦活作用 カップリング反応

## 1. 研究開始当初の背景

中枢における神経伝達異常と考えられるアルツハイマー症に対する治療法としては、現在ドネペジルが適用されている。中枢でアセチルコリンエステラーゼを阻害し、神経伝達物質であるアセチルコリンの増加を促し、軽度の症状改善や進行を遅らせる対症療法的に用いられているが、病態そのものの進行を防ぐことはできず、根本的な治療とはなっていない。他のアルツハイマー病治療薬としても、臭化水素酸ガラントミン、NMDA 受容体拮抗作用のメマンチンなどが臨床応用されているが、病態の悪化に従って作用は減弱するため、これらもドネペジル同様に根治療法には繋がっていないのが現状である。また、脳-末梢間での神経伝達異常のひとつである脊髄損傷によるニューロン断絶にはメチルプレドニゾロンが使用されるが、その効果は疑問視されており、根本的な治療法の確立が必要となっている。

これまでに筆者の研究グループでは、インド生薬である Ashwagandha より脳神経賦活作用成分として単離されたウィタノシド IV のアグリコンであるソミノンの初めての化学的合成と、関連誘導体の合成を行い、これらの薬理活性評価を行ってきた。その結果、ウィタノシド IV の活性本体がソミノンであることを証明し、さらに構造展開により、ステロイド A 環上のヒドロキシル基と  $\gamma$ -ラクトン上のメチル基を省いた誘導体デノソミンが、天然由来のソミノンの薬理活性を上回る活性を示すことを見いだしている。現在、*in vitro* のみならず脊髄損傷モデルマウスにおいても有為に作用発現することまで突き止めており、その詳細な作用機序の解明が待たれている。

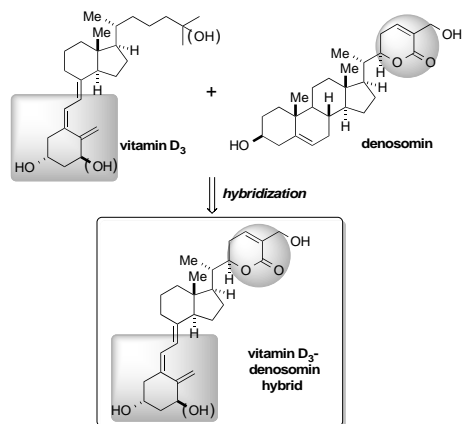
このように、デノソミンを基盤とした新たな脊髄損傷治療薬開発やアルツハイマー症薬開発により、患者の QOL を改善するのみならず、付随する家族の負担を大きく軽減することが可能となり、社会的に大きな波及効果をもたらすと期待できる。



## 2. 研究の目的

最近になり、ビタミン D<sub>3</sub> 類縁体のなかでもデノソミンの  $\delta$ -ラクトン構造と類似した

-不飽和-  $\gamma$ -ラクトン構造を持つ化合物が、ビタミン D<sub>3</sub> レセプターと良い親和性を示すことが報告されたことから、申請者はデノソミンもビタミン D<sub>3</sub> レセプターを分子ターゲットとしている可能性を推測しており、実際にそれを示唆する生物学的実験結果も得ている。筆者はこれまでも、天然物ハイブリッド化戦略に基づいた誘導体化を行い、天然物を超える人工生理活性物質の創製に成功しているため、今回、新たにデノソミン骨格とビタミン D<sub>3</sub> の骨格とを融合したデノソミンハイブリッドの合成を計画することとした。このようなハイブリッド化戦略によって、デノソミン誘導体の分子ターゲットとの親和性を向上させ、より強力な神経細胞軸索および樹状突起伸展作用を持つ誘導体を探索するとともに、その作用機序解明と、これまで困難とされてきた破断神経繊維の再接続を可能とする新規薬剤を創出することを目的とする。



## 3. 研究の方法

### (1) デノソミンの大量合成法の確立

デノソミンの合成法については、既に当研究グループにて開発し、本法により 100 mg 程度の量のデノソミンを確保できるが、グラムスケールで安定的に本化合物を供給するため、個々の工程の更なる最適化や改良を行う。

### (2) デノソミンからビタミン D<sub>3</sub> ハイブリッドへの変換の検討

生体内反応を模した、デノソミンからの酸化的変換によるビタミン D<sub>3</sub> ハイブリッドへの変換を検討する。これが達成できれば、本研究で設計したハイブリッド分子を構築する上で、もっとも短工程での合成が期待できる。

### (3) 収束的合成戦略による種々のハイブリッド誘導体の効率的合成

ステロイド CD 環相当部と、ビタミン D<sub>3</sub> のトリエン部をそれぞれ別途合成し、合成終盤で Wittig 反応もしくはパラジウム触媒カップリング反応により連結させ、目的とするハイブリッド化合物を収束的に構築する。このような合成経路を確立でき

れば、活性型ビタミン D<sub>3</sub> ハイブリッドを含めた多様な誘導体を簡単に調製でき、迅速なスクリーニングを進めることが可能であると考えられる。

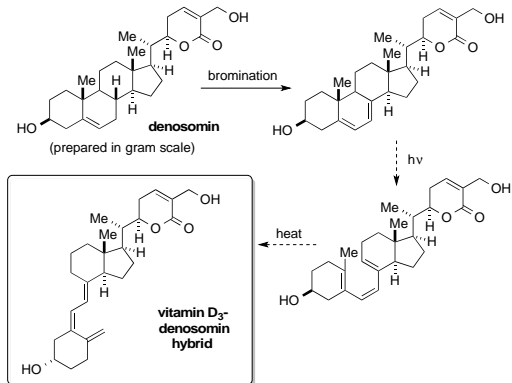
#### (4) 合成したハイブリッド誘導体の活性評価と化合物デザインへのフィードバック

ハイブリッド誘導体ライブラリー構築の進捗に応じて、まずは *in vitro* にて神経細胞軸索および樹状突起伸展作用の活性評価を行う。これらのデータを基に、詳細な構造活性相関についての考察・解析を行い、更なる分子設計へとフィードバックする。

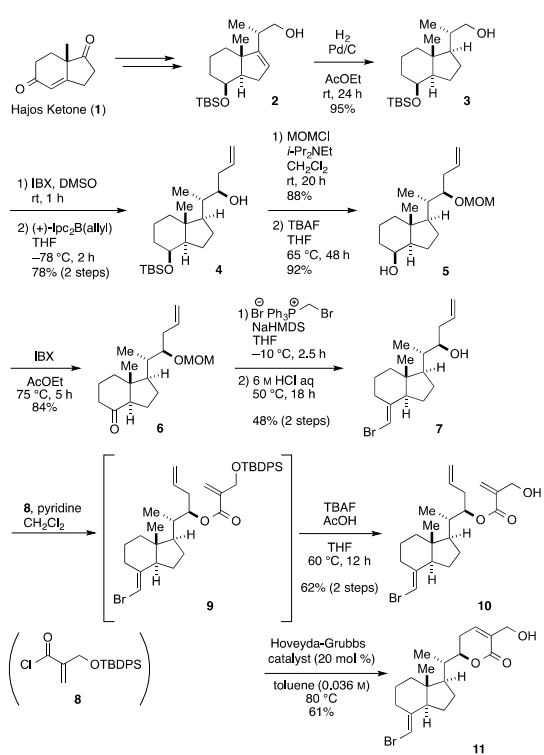
#### 4. 研究成果

本研究でデザインしたデノソミン-VD<sub>3</sub> ハイブリッド化合物を合成するにあたり、まずはデノソミンからの化学変換によるアプローチを検討した。そのためには、デノソミンを大量にかつ安定して供給できる化学合成ルートの確立が求められる。そこで、既存の合成ルートから保護基の種類を工夫するなどの改良を施し、グラムスケールで本化合物を合成できる方法を確認することができた。

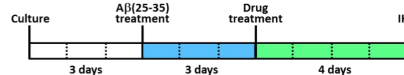
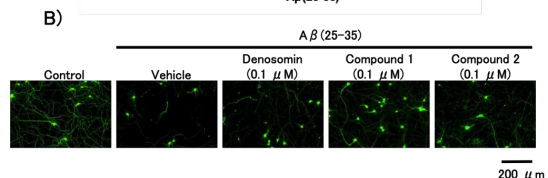
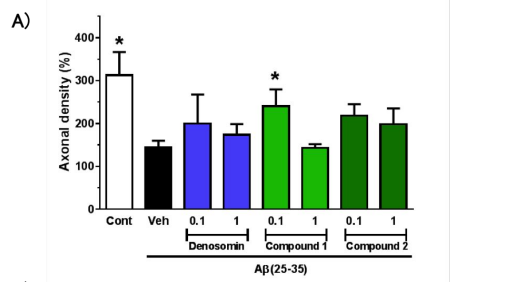
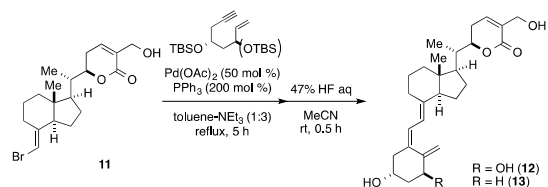
一方、ここで得られるデノソミンの化学変換について種々検討を行ったが、最初の工程のプロモ剤による酸化変換が困難であり、本法によるハイブリッド化合物の合成については断念した。



そこで次に、CD 環部と A 環部とをカップリングにて連結する収束的合成戦略に切り替え、検討を行った。まず、CD 環部に相当するフラグメント 11 を、入手容易な Hajos ケトン (1) を出発原料として合成した (下式)。文献既知の方法で化合物 2 へと変換し、選択的接触還元、アルコールの酸化、不斉アリル化を経て化合物 4 とした。次いで、保護基の掛け替え、ケトンの酸化、Wittig 反応によりプロモオレフィン体 7 を得た。ピロン環の構築には、Hoveyda-Grubbs 触媒を利用した閉環メタセシス反応を活用し、効率よく CD 環部に相当するカップリング基質 11 を合成することに成功した。



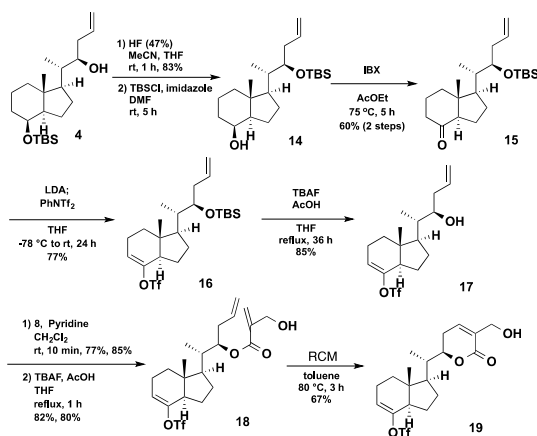
A 環に相当するエンイン体とはパラジウム触媒を用いた Trost カップリングの手法を用いることとし、種々反応条件の検討を行った。その結果、下式に示す条件にて目的のカップリングが進行し、目的とするハイブリッド化合物 12 および 13 を得ることに成功した。



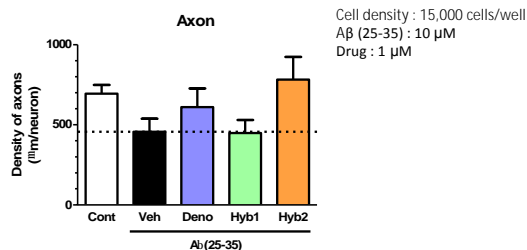
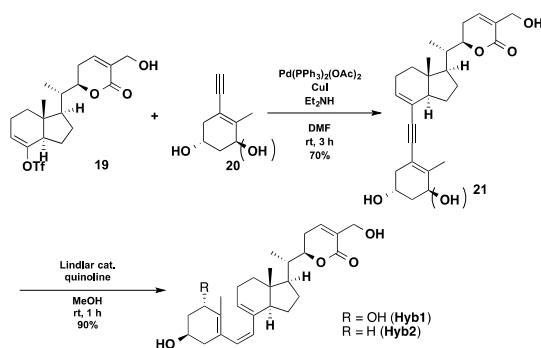
得られた 2 種類のハイブリッド化合物 12 (Compound 1) および 13 (Compound 2) の、

軸索再伸展作用について評価を行った(上図)。A)に示されるように、デノソミンと比較して、特に Compound 1 (0.1 $\mu$ M)において活性の増強が観察された。また B)には薬物処理後の細胞の形態を示しているが、特に Compound 1 が細胞の賦活作用が顕著である様子が認められた。このように、本研究の化合物デザインが、新規神経系賦活薬の探索に有効であることが示唆された。

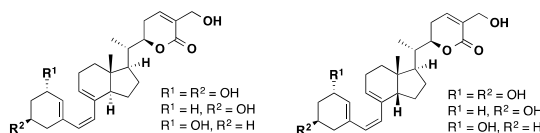
これまでの結果を受け、更なる活性の向上を目指し、VD3 受容体との親和性増大が期待される 6-s-cis アルケン構造で固定化した新規ハイブリッド化合物をデザインした。その合成の概略は下図の通りである。先の合成中間体 4 から 3 工程にてケトン体 15 を得、トリフレート化により化合物 16 とした。次いで、先のピロン環構築と同様の変換にて、カップリング基質となる CD 環部 19 を合成できた。



A 環に相当するカップリングパートナーとなるアルキン体 20 は、シキミ酸から効率よく合成することができた。トリフレート体 19 との Sonogashira カップリングは、パラジウム触媒下で円滑に進行し、カップリング体 21 を得た。アルキン部の部分還元を Lindlar 触媒条件にて行い、2 種の新規ハイブリッド化合物 Hyb1 および Hyb2 を合成することに成功した。また、これらの軸索再伸展作用については、下図に示す通り、Hyb2 において親化合物であるデノソミンを上回る活性を示すことが確認された。



以上のように、デノソミンを上回る活性を示すハイブリッド誘導体を見出だすに至ったが、Hyb2 は A 環メチル基上のプロトトロピーに起因する異性化が進行しやすく、化学的安定性に欠けることが分かった。そこで、Hyb2 の A 環からメチル基を除いたハイブリッド誘導体、加えて CD 環部がシス縮環した新規誘導体を設計し、合成に取りかかった。先の合成経路に従い、トリフレート体 19 を用いた Sonogashira カップリングにて検討を進めており、現在、下図に示す 6 種のハイブリッド合成完了に向けて研究が進行中である。合成が完了したら、活性評価を行って、有望な新規神経系賦活薬剤の探索研究を進めることとしている。



## 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)

Synthesis of Denosomin-Vitamin D<sub>3</sub> Hybrids and Evaluation of their Anti-Alzheimer's Disease Activities. Sugimoto, K.; Yajima, H.; Hayashi, Y.; Minato, D.; Terasaki, S.; Tohda, C.; Matsuya, Y. *Org. Lett.* **2015**, *17*, 5910-5913. (査読有)  
DOI: 10.1021/acs.orglett.5b03138

〔学会発表〕(計 6 件)

- 村田賢信, 矢島久成, 林 祐介, 湊大志郎, 寺崎紗有里, 杉本健士, 東田千尋, 松谷裕二: アルツハイマー症治療薬開発を指向した Denosomin-Vitamin D<sub>3</sub> ハイブリッドの設計と合成. 日本薬学会第 136 年会, 2016, 3, 27-29, 横浜.
- Sugimoto K, Yajima H, Tohda C, Matsuya Y. Design, synthesis, and biological evaluation of promising anti-Alzheimer's compounds having dihydropyrone unit as a key component. The XVI International Conference on Heterocycles in Bioorganic Chemistry; 2015 June 8-11; Metz (France).
- 松谷裕二. 創薬に生かされている化学.

- 高教研大会化学部, 2014, 10, 2, 富山 .
- (4) 松谷裕二 . 生理活性天然物を基盤とした分子設計と有機合成 . 東邦大学特別セミナー, 2014, 6, 14, 千葉 .
- (5) 矢島久成, 杉本健士, 湊大志郎, 東田千尋, 松谷裕二 . デノソミン-VD<sub>3</sub>ハイブリッドの設計と合成を基盤とした新規アルツハイマー治療薬の開発研究 . 第 43 回複素環化学討論会, 2013, 10, 17-19, 岐阜 .
- (6) 矢島久成, 杉本健士, 東田千尋, 湊大志郎, 松谷裕二 . 新規神経系賦活薬創成を目指したデノソミン-Vitamin D<sub>3</sub> ハイブリッドの合成 . 平成 25 年度有機合成化学北陸セミナー, 2013, 10, 4-5, 金沢 .

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

松谷 裕二 (MATSUYA YUJI)  
富山大学・大学院医学薬学研究部・教授  
研究者番号 : 50255858

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

杉本 健士 (SUGIMOTO KENJI)  
富山大学・大学院医学薬学研究部・准教授  
研究者番号 : 60400264  
東田 千尋 (TOHDA CHIHIRO)  
富山大学・和漢医薬学総合研究所・准教授  
研究者番号 : 10272931