

抗寄生虫活性を有する微生物由来天然物をリードとした創薬研究

感染制御科学専攻・生物有機化学研究室

DI-14003 千成 恒

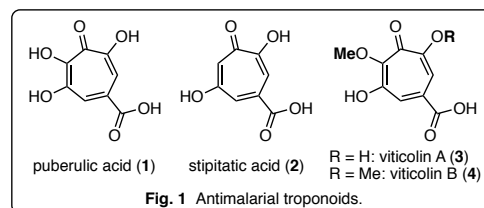
衛生環境が整備された先進国とは異なり、発展途上国においては現在においても感染症が猛威を振るっており主たる死亡原因となっている。また、疾病原因菌・寄生虫の既存薬に対する耐性化が問題であり、新たな薬剤開発は常に望まれている。人智を越えた特異な構造を有する天然物は古くから創薬へと応用され、現在までに開発された医薬品の半数以上が天然物を基にしたものである。我々は特に抗感染症薬として有望な生理活性天然物をリードとした創薬研究を展開したので以下に述べる。

1. 抗マラリア活性を有するトロポノイド類の全合成を基盤とした創薬研究

【研究背景・目的】

近年、流行地域が拡大傾向にあるマラリアは世界三大感染症の1つに位置付けられ、耐性原虫の急増から新たな骨格と作用機序を有する薬剤開発が急務である。更に、流行地域の衛生・経済的状况から安価で安全、経口単回投与において有効な薬剤が求められている。

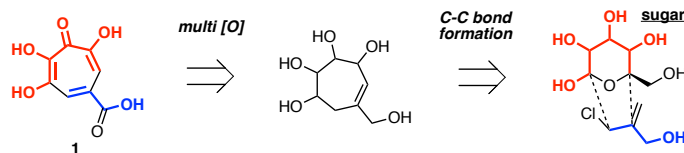
そのような背景の下、当研究所の熱帯病評価センターにおける抗マラリア活性物質探索のスクリーニングの結果、*Penicillium viticola* FKI-4410 株培養液中より puberulic acid 及び stipitatic acid と新



規類縁体である viticolin 類が単離された (Fig. 1)。これら天然物の構造的特徴として、非ベンゼン系7員環芳香族であるトロポロン骨格が高度に酸素原子官能基化されていることが挙げられる。また puberulic acid (1) は *in vitro* において既存薬である chloroquine を凌ぐ強力な活性を示し、更に *in vivo* におけるマウスを用いた動物試験においても有効であることが見出されたが、毒性を示すことが問題であった。しかしながら 1 の特徴的で低分子量かつ不斉炭素を持たない構造は、新たな作用機序を持つ抗マラリア薬候補化合物として有望であると考え、1 をリードとした創薬研究を着想した。

【研究方法】

効率的で実践的な 1 の全合成経路の確立を基盤として、網羅的に誘導体合成を行い構造活性相関を解明することで、活性を維持したまま毒性を軽減した薬剤候補化合物の創製を指向した。本化合物群の全合成においては、如何にして芳香環であるトロポロン骨格を構築するかが鍵であり、我々は脂肪族7員環化合物より水酸基の一挙の酸化によって芳香環化する戦略を立案した (Scheme 1)。

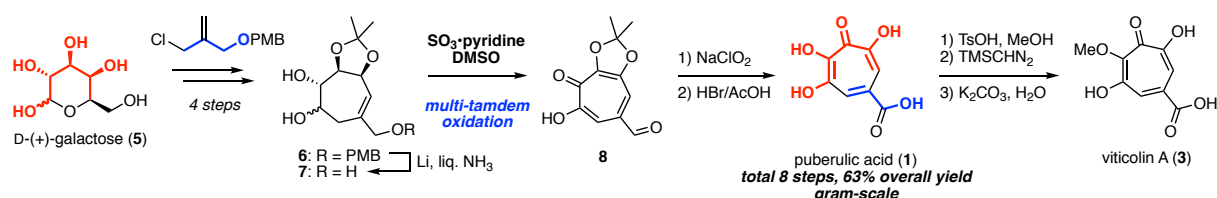


Scheme 1 Synthetic strategy of puberulic acid (1).

また出発原料として、通常は不斉源として頻用される安価な糖を天然物が有する C-C 結合及び、C-O 結合を可能な限り備えた“骨格源”として用いることで、最小限の結合形成で効率的に標的天然物へと導けると考え、合成に着手した。

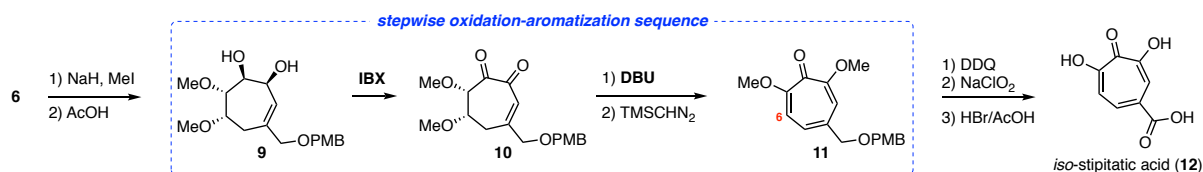
【研究結果・考察】

標的天然物 **1** の全合成においては先述の戦略に従い、D-(+)-galactose (**5**) より 2 度の C-C 結合形成反応によって 5 工程でトリオール **7** へと導いた。種々検討の結果、**7** を Parikh-Doering 酸化の条件に付すことで、芳香族化を伴った 2 段階の酸化反応が一挙に進行しアルデヒド **8** が得られることが分かった。その後、Pinnick 酸化と保護基の除去を行うことで目的の天然物 **1** を全 8 工程、総収率 63% で合成することができた。更に、本合成経路を用いてグラムスケールでの **1** の供給に成功している。また、**1** をメチルエステル化した後に 1 当量の TMSCHN₂ を作用させることで位置選択的な水酸基のメチル化を行い、類縁天然物である viticolin A (**3**) の全合成に成功した (Scheme 2)。



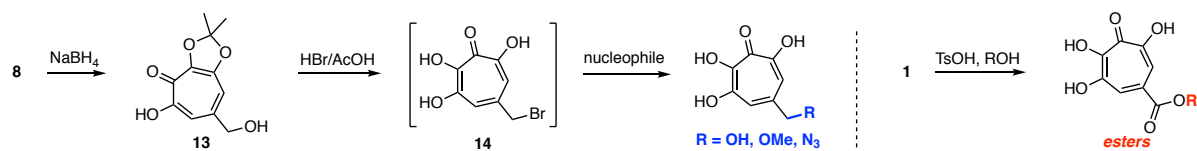
Scheme 2 Total synthesis of natural products **1** and **3**.

誘導体合成においては、まず始めに天然物から得られた構造活性相関をより詳細に解明するため、トロポロン骨格上の水酸基をメチル化、及びデヒドロキシ化した化合物の合成を指向した。この際、全合成途中で得られた知見を基に非天然型の置換様式を有する化合物へと導いた (Scheme 3)。即ち、全合成中間体である **6** より保護基を架け替えたジオール **9** に対して、段階的な IBX 酸化の後の DBU を用いたヒドロキシ基の脱離による芳香環化によって 6 位デヒドロキシ体 **11** を合成した。その後、カルボン酸への酸化と脱保護を行うことで天然物 **2** の異性体である **12** へと導いた。



Scheme 3 Derivatization to non-natural-type compounds.

その他、天然物 **1** のカルボン酸部位を変換した誘導体の合成にも着手した (Scheme 4)。即ち、全合成中間体である **8** に対して、NaBH₄ による還元を行ったのちに HBr/AcOH で処理することでアセトニド基の脱保護に伴うブロモ化が進行し **14** を得た。その後、種々の求核剤と反応させることによって多様な誘導化に成功した。また、合成した **1** に対して TsOH 存在下、種々のアルコールと反応させることでエステル誘導体の合成を行った。現在までにここに示した誘導体の他にアミド体の合成にも成功している。



Scheme 4 Synthesis of natural-type derivatives.

全合成中間体も含め、合成した誘導体は網羅的に *in vitro* と *in vivo* における抗マalaria活性を測定した。その結果、トロポロン骨格上の水酸基の有無が活性に大きく影響すること、並びに天然物のカルボン酸部位のカルボニル基の存在が活性、及び毒性に関与することが示唆された。合成した誘導体の中でも特にエステル体は活性が高く、詳細なマウスを用いた動物試験の結果、既存薬である artesunate と同等の活性を有し、毒性を示さないことが分かった。更に、経口投与においても効果的であったことから、現在作用機序の解明を含めたより詳細な試験を行っている。

以上のように本テーマにおいては、puberulic acid の全合成を基盤とした構造活性相関研究によって、天然物の問題点を克服し、既存の薬剤に匹敵する有望な誘導体の合成に至った。

2. コンビナトリアルライブラリー構築を指向したエバーメクチン類の全合成研究

【研究背景・目的】

Avermectin (AVM) は当研究所において 1979 年に単離された抗寄生虫・殺虫活性を有する天然物である (Fig. 2)。AVM B1a を主成分として化学修飾によって導かれた ivermectin (IVM) はオンコセルカ症やリンパ系フィラリア症などのヒトへの抗感染症薬や動物の抗寄生虫薬として広く利用されている。近年の盛んな研究によって IVM がマラリアを始めとする新たな抗寄生虫活性や抗菌・抗ウィルス活性、抗腫瘍活性を示すという報告もあり、生物活性の観点から未だに大きな潜在能力を秘めた魅力的な化合物である。AVM 類は微生物の遺伝子操作と培養による大量取得の手法が確立されており、天然物を半合成的に化学修飾することで多くの誘導体の合成が報告されている。またその中で 10 種類以上もの化合物が医薬・農薬・動物薬として市販されている。

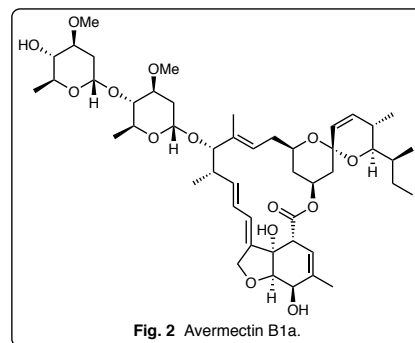


Fig. 2 Avermectin B1a.

生物活性の観点から未だに大きな潜在能力を秘めた魅力的な化合物である。AVM 類は微生物の遺伝子操作と培養による大量取得の手法が確立されており、天然物を半合成的に化学修飾することで多くの誘導体の合成が報告されている。またその中で 10 種類以上もの化合物が医薬・農薬・動物薬として市販されている。

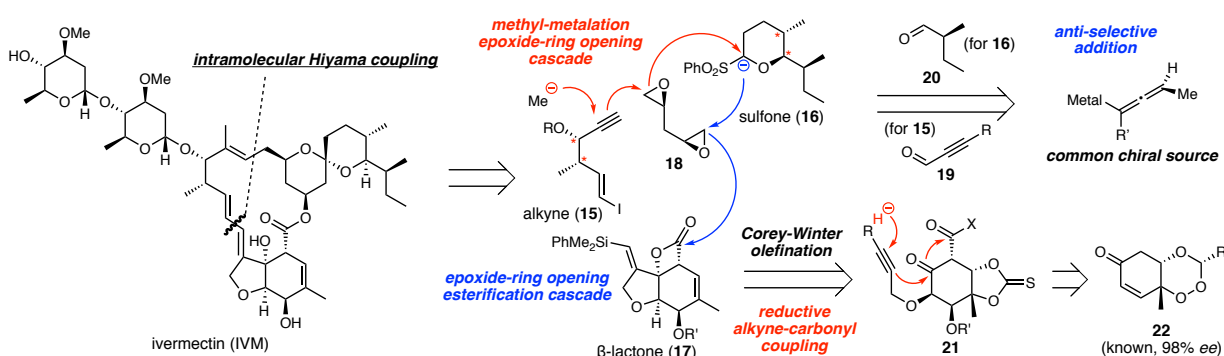
このように生物活性と化学構造的に魅力的な AVM は、これまでに数多くの研究者によって合成研究が展開されてきた。報告されている全合成はそれぞれ特徴的な経路で AVM の骨格を構築している一方で、多段階を要するため多様な誘導体の合成という観点では課題が残る。そこで我々は AVM 類の全合成的化合物ライブラリーの構築を目的に、その基盤として IVM を標的に新たな効率的かつ短工程な全合成経路の確立を目指して本研究に着手した。

【研究方法】

網羅的かつ効率的に誘導体合成を行うため、IVM のアグリコンを3つのフラグメント (**15-17**) に分割し、ビスエポキシド **18** を介したカスケード反応によって収束的に合成する経路を立案した (Scheme 5)。更に、本カスケード反応をフロー合成へと適応することで、自動合成的なライブラリー構築を指向した。即ち、多様性に富み、収束的カップリングに必要な官能基を導入した各フラグメントをそれぞれ数種類調製しカスケードシーケンスへ適用することで、その組み合わせによる更なる多様性で超効率的な AVM 類の化合物ライブラリーが構築可能であると考えた。

基盤である IVM の全合成においては、アグリコン上部に当たる **15** と **16** の共通するアンチ配座の立体化学に着目し、同様の不斉源であるアレニル試薬より異なるアルデヒド **19** と **20** への立体選択的な求核付加反応を行うことで効率的に導けると考えた。

アグリコン下部のフラグメント **17** は鍵反応としてアルキン-カルボニルの還元的環化反応に続く β -ラクトン化によって β -ケトカルボニル **21** より導けると考えた。化合物 **21** は既知の *p*-cresol の酸化的脱芳香族化に続く、不斉オキサマイケル反応によって合成可能であるエノン **22** より導くこととした¹⁾。

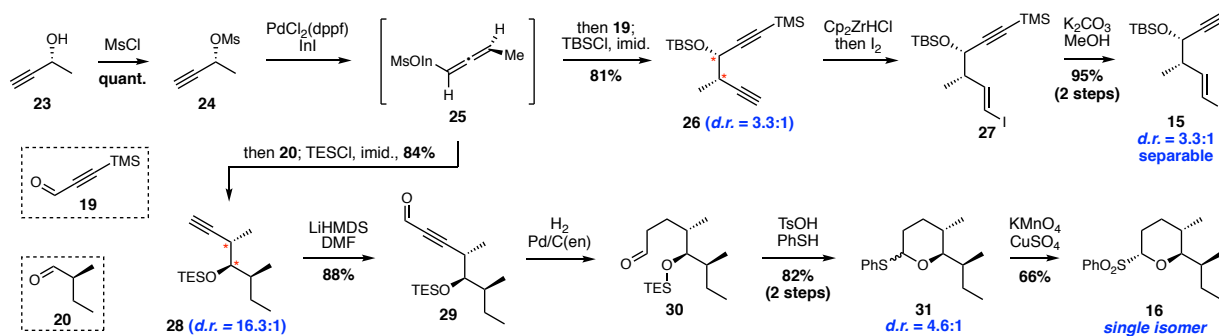


Scheme 5 Synthetic strategy of ivermectin.

【結果・考察】

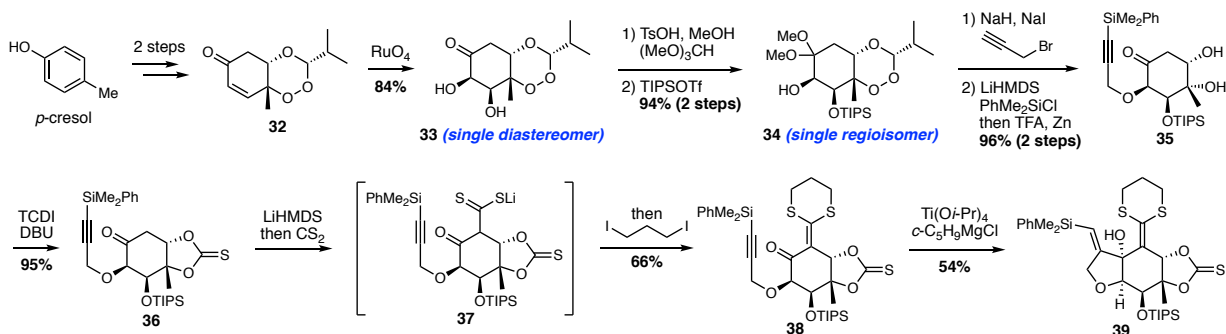
上部のフラグメントであるアルキン **15**、及びスルホン **16** の合成を Scheme 6 に示す。市販品であるキラルなアルコール **23** をメシル化して導いた **24** に対して、Marshall らの報告²⁾を参考に Pd 触媒存在下、InI を作用させることでキラルアレニル **25** を調製し、アルキンフラグメントに相当するアルデヒド **19** を加えることでアンチの立体配座を有する望みの **26** をジアステレオ比 3.3:1 で得た。生じた **26** の末端アルキン部分をシュワルツ試薬を用いてヒドロヨウ素化し **27** とした後に、TMS 基の脱保護を行うことで目的のフラグメント **15** の合成に成功した。

また先と同様の条件下、アレニル **25** に対して別途調製したスルホンフラグメントに相当するアルデヒド **20** を作用させることで、目的の立体を有する **28** を 16.3:1 のジアステレオ比で得た。次に、末端アルキンのホルミル化によって共役アルデヒド **29** を合成した後、水素添加反応を行うことで飽和アルデヒド **30** へと導いた。最後にシリル基の脱保護と同時の *S,O*-アセタール化と中性条件におけるスルホンへの酸化によって目的のフラグメント **16** の合成を完了した。



Scheme 6 Assembly of alkyne fragment 15 and sulfone fragment 16.

下部ユニットである β -ラクトン 17 の合成においては鍵である縮環構造の構築に成功し、等価体の合成を完了した (Scheme 7)。まず、出発原料である *p*-cresol より既知の 2 工程によって導いたエノン 32 に対して、 RuO_4 を用いた convex 面選択的なジヒドロキシ化によりジオール 33 を単一のジアステレオマーで得た。次に、ジオール部位の位置選択的な変換はカルボニル基の保護に続く TIPS 化により達成し、単一の異性体でモノオール 34 とした後、種々の官能基変換によってケトン 36 へと導いた。そして検討の結果、鍵である 5-6 員環の縮環システムは 36 を LiHMDS で処理し、 CS_2 と 1,3-diiodopropane を加えることで導いた化合物 38 に対して、2 価の低原子価 Ti によるアルキンとカルボニルの還元的環化反応³⁾によって構築することができた。



Scheme 7 Elaboration of β -lactone fragment synthon 39.

【結論】

微生物由来の生理活性天然物を標的に、全合成経路の確立を基盤とした創薬研究を展開した。1つ目のテーマでは誘導体合成を通して構造活性相関を解明したことで、天然物の課題を克服し薬剤候補化合物の創製に至った。2つ目のテーマにおいてはIVMを3つに分割した各フラグメントの効率的な合成法を確立した。

【参考文献】

- 1) Rubush, D. M., Morges, M. A., Rose, B. J., Thamm, D. H., Rovis, T. *J. Am. Chem. Soc.* **134**, 13554-13557 (2012).
- 2) Marshall, J. A., Grant, C. M. *J. Org. Chem.* **64**, 8214-8219 (1999).
- 3) Okamoto, S., Kasatkin, A., Zubaidha, P. K., Sato, F. *J. Am. Chem. Soc.* **118**, 2208-2216 (1996).