

学位論文題名

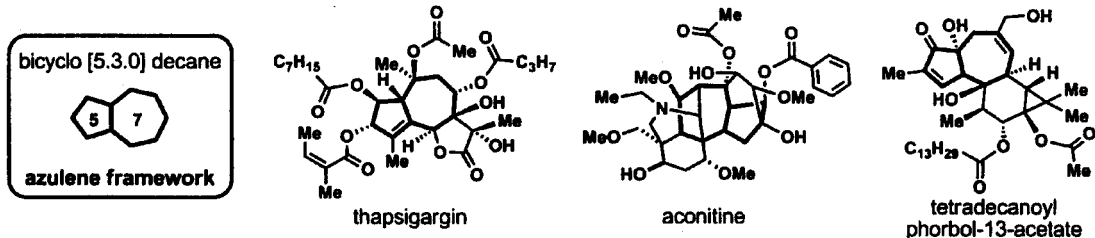
Sequential Annulations of Azulenone Manifold to
Generate Natural Product-Inspired Scaffolds

(アズレノンを活用した連続環化による天然物類似化合物群の創製)

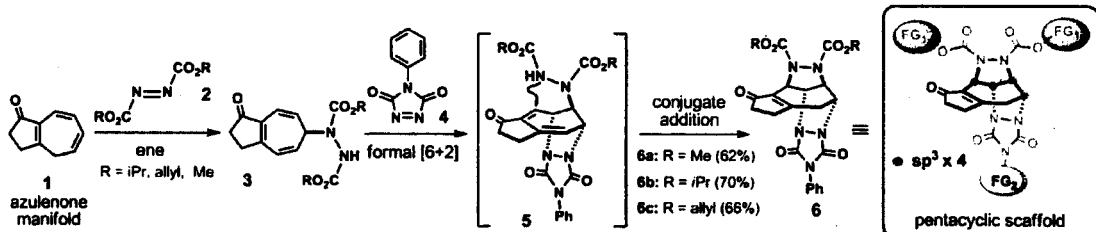
学位論文内容の要旨

Fragment-based drug design (FBDD) has emerged in the past decade as a powerful approach for drug discovery process. Identification of small-sized (molecular weight ~ 150) and low-affinity fragments and subsequent linking of the fragments bound to adjacent regions in targeted biomolecules could produce a high-affinity small molecule. Tactics for the fragments linking remain limited and usually rely on Click chemistry or cost-effective medicinal transformations employing heteroaromatic manifolds or flexible alkyl/peptidyl linkers. The linear assemblies of the several fragments typically produce sp^2 -rich flat molecules with limited three-dimensionality and complexity compared to those of natural products and products of diversity-oriented synthesis (DOS).

In this thesis, chapter 1 introduces background and recent progress on the FBDD. Structural and functional features between the synthetic drugs and natural products are then compared. Natural products often possess cyclic scaffolds bearing dense arrays of functional groups and hydrogen-bond donors/acceptors. Incorporation of multiple sp^3 -centers on the scaffold creates unique three-dimensional shape of the surface, which is responsible for the specific molecular recognition with biomacromolecules. Exemplified by thapsigargin (Ca^{2+} -ATPase inhibitor) and aconitine (Na^+ -channel modulator), naturally occurring terpenes sharing bicyclo[5.3.0]decane framework are highlighted as potent and specific modulators of protein functions.

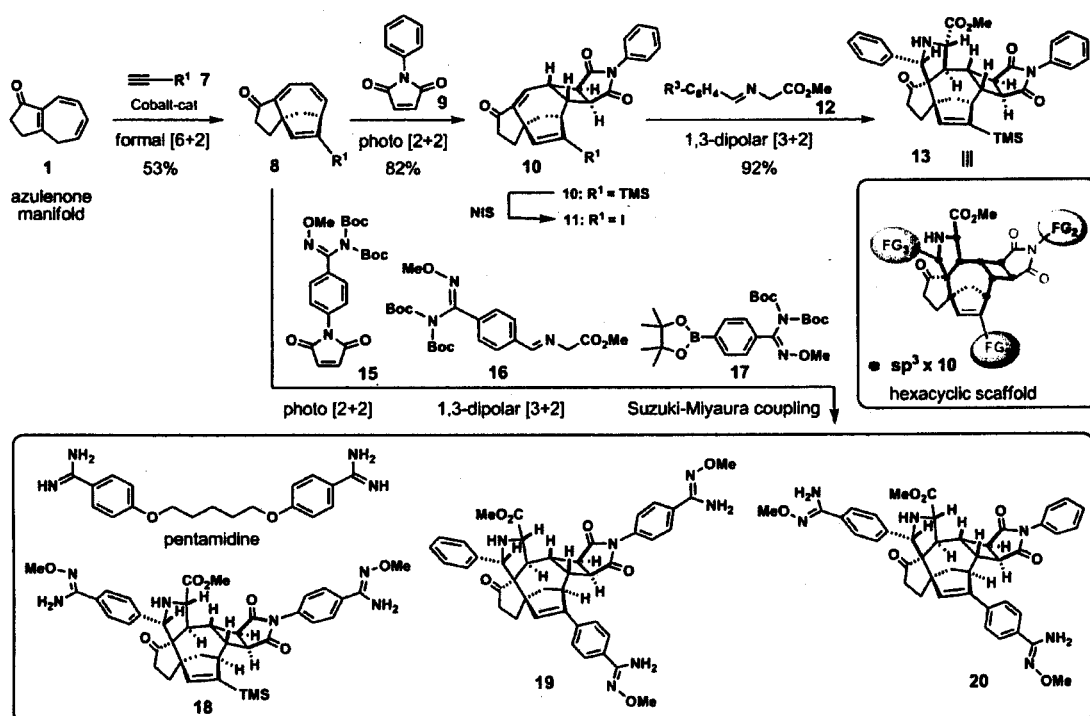


Chapter-2 describes assembly of two fragments through cascade annulations employing azulenone 1 as a versatile manifold. Dense and stereo-controlled integrations of four C-N bonds on 1 were accomplished in one-pot through (1) ene reaction: 1→3, (2) formal [6+2] cycloaddition: 3→5 and (3) hetero-conjugate addition leading to an alternately bis-bridged 6 in good yields (62-70%). This cascade process not only allows rapid assembly of the two fragments on 1 but also installs four consecutive sp^3 -stereogenic centers on the pentacyclic scaffold 6 in a highly stereocontrolled manner.



Chapter-3 gives details of assembly of three fragments through sequential annulations on **1**, which allows (1) three-dimensional presentations of the fragments; (2) concise and flexible access to sp^3 -rich complex scaffolds (such as **13**) reminiscent of natural products; (3) installations of several appending sites including a substituted proline moiety for further diversifications. Cobalt-catalyzed formal [6+2] cyclization of **1** with **7** predominantly formed tricyclic adduct **8**. After taking trials and errors on modifications of substrates and optimizations of irradiation conditions, [2+2] photo-cycloaddition of **8** with **9** was successfully achieved giving rise to **10** in 82% yield with exquisite controls of regio- and stereo-selectivities. Subsequent [3+2] cycloaddition of **10** with **12** proceeded stereoselectively to afford hexacyclic scaffold **13** in 92% yield. Notably, this process allows stereo-controlled installations of ten sp^3 -sterogenic centers in **13**.

Having established protocols for the sequential annulations, assemblies of aromatic benzamidine fragments into the three sites of the hexacyclic scaffold were then explored. By making use of three kinds of benzamidine fragments (**15-17**), a series of small molecules (**18-20**) with variations on distances and angles between the benzamidine moieties were systematically synthesized.



Chapter-4 aims to address biological evaluations of the synthetic compounds described in Chapter-2 and Chapter-3. Taking into account for the structural homology between compound **18-20** and an approved drug for trypanosomiasis (sleeping sickness), pentamidine, bearing a pair of benzamidines linked through a flexible alkyl linker, a preliminary assessment of *in vitro* anti-trypanosomal activities were described (collaboration with Kitasato institute: Prof. Kazuhiko Otoguro *et. al.*). In addition, preliminary efforts for screenings of anti-cancer agents through collaboration with Eisai Co., Ltd. were also described.

学位論文審査の要旨

主査	教授	及川英秋
副査	教授	谷野圭持
副査	教授	伊藤肇
副査	教授	藤田恭之
副査	准教授	大栗博毅

学位論文題名

Sequential Annulations of Azulenone Manifold to Generate Natural Product-Inspired Scaffolds

(アズレノンを活用した連続環化による天然物類似化合物群の創製)

博士学位論文審査等の結果について（報告）

Fragment-based drug design (FBDD) は、医薬品リード化合物を効率的に創製する手法として、活発な研究が展開されつつある。生体高分子のリガンド結合ポケットに弱く相互作用する複数のフラグメントを選定し、これらを連結して高い結合親和性を獲得した化合物を創出するアプローチである。現状では、分子量約150以下のフラグメント同士を連結する手法は限られており、クリックケミストリーやヘテロ芳香環やペプチドリンカーを用いた連結反応が多用される。そのため合成した化合物群は、 sp^2 炭素含有率の高い平板な造形となるので、天然物や多様性指向型合成で供給される化合物群と比較すると構造の複雑性や多様性が限定的である。申請者は、標的とする生体高分子に強力かつ特異的に結合する sp^3 炭素含有率の高い低分子リガンドを合理的に創出するため、生理活性天然物に類似した多環性骨格に複数のフラグメントを提示する合成手法の実現に取り組んだ。2環性のアズレノンを出発物質として、2－5種類のフラグメントを集積化しながら逐次縮環させ、5－6環性の骨格を迅速合成するフラグメント集積化法を開発した。さらに、ベンズアミジンフラグメントを様々な空間配置で提示した多官能性化合物ライブラリーの系統的合成にも成功した。本研究により、所望のフラグメントを連結しながら天然物類似多環性骨格を複雑化・官能化・多様化する合成プロセスが実現された。生体標的分子への特異性が高く副作用を低減した生体機能性分子を創製する新しい合成手法として更なる展開と創薬への応用が期待される。

タブシガーギンは、ピシクロ [5.3.0] 骨格に提示したラクトンと4つのアシル側鎖により、 Ca^{2+} -ATPase 分子表面を特異的に認識する。これら部分構造の空間配置は、タブシガーギン骨格に存在する7つの sp^3 炭素の立体化学により精密に規定されている。フォルボールエステルは、セカンドメッセンジャーであるジアシルグリセロールの構造をより複雑化・官能化し、コンフォメーションを固定化したミミックと捉えられる。フォルボールエステルは、ジアシルグリセロールよりも圧倒的に高い親和性で蛋白質リン酸化酵素に結合し、活性化状態を維持する。また、カプサイシンの構造を多環性骨格に組み込んだレシニフェラトキシンは、カプサイシンよりも低濃度でバニロイド受容体を活性化する。セスキテルペン類の構造と活性の知見を踏まえて申請者は、フラグメントを導入しながら sp^3 炭素含有率の高い多環性骨格を構築する合成戦略を案出し、標的分子へ特異的に結合するリガンドの創製に取り組んだ。

最初に申請者は、ビシクロ [5.3.0] 骨格を持つアズレノン маниフォルドとして、2種のフラグメントを集積化する合成プロセスを開発した。シクロペプタトリエン部位の特異な反応性を制御しながら、鎖状のアゾジエステルとの位置選択的なエン反応を実現した。7員環上のトリエンを転位させたシクロペプタトリエンに対し、今度は環状のアゾ化合物(PTAD)を作用させると、形式的には [6+2] 型の付加環化とヘテロ共役付加が進行し、五環性の化合物が一挙に構築されることを見出した。パラプロモベンゾエートへ誘導してX線結晶構造解析を行い、4連続の炭素-窒素結合が全てアンチの立体化学でマニフォルドに導入された五環性骨格の形成を確認した。さらに、アズレノンに鎖状/環状アゾ化合物を順次作用させるワンポット反応を実現し、簡便な操作で2種類のフラグメントを提示した五環性骨格を構築する手法を確立した。

次に申請者は、アズレノンのシクロペプタトリエン部位に存在する6連続の sp^2 炭素を全て活用した連続環化により、5種類のフラグメントを連結して6環性骨格を構築した。まず、末端アセチレンフラグメントとアズレノンとの分子間 [6+2] 環化を検討した。Buono らがシクロペプタトリエンを基質として報告したコバルト触媒による反応条件を適用し、共役ジエンの転位と四級炭素の構築を伴いながら三環性骨格を合成した。シクロペンタノンと共役したジエンとマレインイミドを連結したフラグメントとの分子間 [2+2] 光環化を検討した。複数の π 電子が近接した基質を光で活性化するので、当初の想定通り様々な副反応が競争する困難な系であった。検討の末、三環性基質の反応点近傍に存在するスチレン部位をビニルシランへ改変することで、反応点の制御に成功した。また、写真用ランプ光源を照射する最適化条件を見出して、位置および立体選択性をほぼ完全に制御した [2+2] 光環化を高収率 (82%) で実現した。次に、アズレノン母骨格に残された α, β -不飽和ケトン部位に対する分子間 [3+2] 環化を実施した。グリシンと芳香族アルデヒドを縮合してアゾメチンイリドを発生させ、LiBr と Et_3N を活性化剤とする柘植らの条件を適用すると、位置および立体選択的な [3+2] 環化が高収率 (92%) で進行し、3置換プロリンユニットを組み込んだ6環性骨格の構築に成功した。X線結晶構造解析で2つの四級炭素を含む10連続の sp^3 炭素で構成される6環性骨格の構造を確実に決定した。さらに、ビニルシラン部位をヨウ化ビニルへ変換後、プロリン窒素を無保護のままアリアルボロン酸フラグメントを鈴木-宮浦カップリングさせる手法を確立した。このように5種類のフラグメント (アセチレン、マレインイミド、グリシン、芳香族アルデヒド、アリアルボロン酸) をアズレノンに集積化する迅速合成プロセス(5-6工程)の開発に成功した。

上記6環性骨格の3箇所へ2つのベンズアミジンフラグメントを導入し、ベンズアミジン同士の距離と角度のバリエーションを創出した化合物群を合成した。カルバメートで保護したアミジンを導入した基質でも逐次環化が効率的に進行することを実証しながら、3系統のビスベンズアミジンとトリスベンズアミジン (1種) の合成に成功した。本研究により、ニューモシスチス肺炎、アフリカ睡眠病 (トリパノソーマ症)、リーシュマニア症の治療薬ペンタミジンのコンフォメーションを固定化し、より複雑化・官能化したペンタミジン様分子群を現実的なコストで合成することが可能になった。複数のベンズアミジンを様々な空間配置で多環性骨格に提示した化合物ライブラリーを活用した生理活性試験と構造活性相関を現在検討中である (国内共同研究)。今後、ビスベンズアミジン類の活性発現に重要な三次元構造について有益な新知見が得られることが期待される。本合成研究により、ペンタミジン類の副作用を大幅に低減した新規医薬品の創製に直結する研究基盤が整備されたと捉えることができる。以上の研究は、有機合成化学の進展に寄与するだけでなく、医薬化学、化学生物学等の境界領域への波及効果も期待され、高く評価される成果である。

よって著者は、北海道大学博士 (理学) の学位を授与される資格あるものと認める。