

学位論文題名

抗マalaria剤アルテミシニンモチーフとした低分子群の 短段階合成と構造多様化

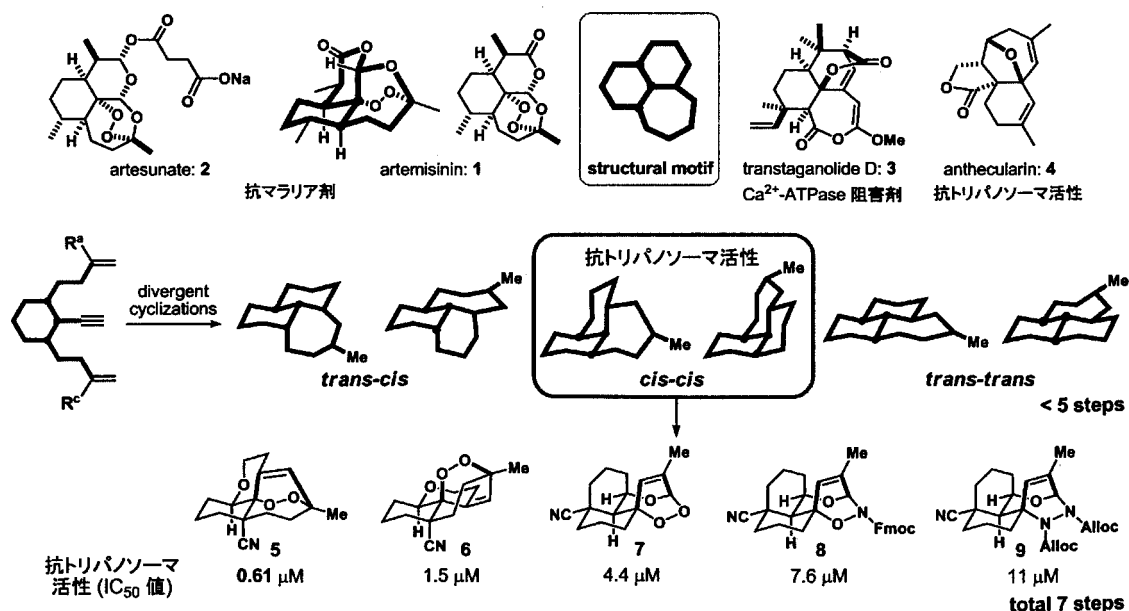
学位論文内容の要旨

抗マalaria剤アルテミシニン **1** は漢方薬青蒿の薬効成分であり、古くから中国で発熱患者の治療に活用されてきた。ヒト正常細胞への副作用がほとんど無く、既存の抗マalaria剤クロロキンに耐性を持つ原虫にも有効であるため、近年ではマalaria治療の第一選択薬となっている。**1** はセスキテルペンラクトン骨格にペルオキシド架橋が導入された複雑な四環性構造を持ち、**1** の供給は現在でも植物からの抽出に依存している。全合成例も複数報告されているが、いずれも多段階を要し現実的なコストでの供給は困難である。現状では、**1** のラクトン部位を化学変換し、水溶性や薬物動態を改善した誘導体アースネート **2** 等が治療に使われている。

本研究では、アルテミシニン **1** やトランスタガノリド **3**、アンセキュラリン **4** 等の生理活性セスキテルペンを構造モチーフとして、天然物類似低分子ライブラリーを設計した。①骨格や縮環部立体化学を系統的に多様化する合成戦略や、②骨格を構成する炭素を窒素へ置換する元素置換戦略を提案・実現し、熱帯感染症(マalaria・アフリカ睡眠病)の治療に有望なリード化合物の創製に取り組んだ。

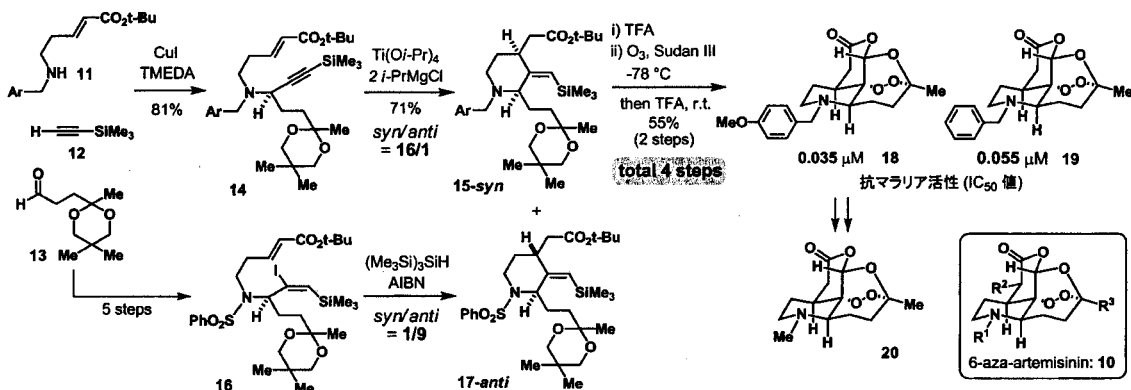
第一章では、マalariaの現状と化学療法に関する背景を記載した。マalaria原虫が感染した赤血球に対して **1** が選択的に作用する機構として、(1) Ca^{2+} -ATPase 阻害、(2) 原虫内で高濃度の Fe^{2+} によるペルオキシドの還元的開裂→ラジカル種発生→局所的な酸化ストレス亢進、等が提唱されている。**1** に関する合成研究は、(1) 多段階全合成、(2) リード最適化を指向した誘導体合成、(3) 構造を簡略化した環状ペルオキシドアナログの創製に終始してきた。**1** の前駆体アルテミシニック酸を遺伝子改変酵母で人工的に生合成する試みが報告されているが、生産効率の改善が不可欠といえる。

第二章では、 Ca^{2+} -ATPase を阻害する **1, 3** や抗トリパノソーマ活性を示す **4** 等のセスキテルペンに共通の三環性構造をモチーフとした骨格改変合成プロセスを開発した。縮環部三連続 sp^3 炭素の立体化学を系統的に改変するアプローチやジエンインの環化様式を制御して骨格を多様化する合成戦略を採用し、三環性化合物群を迅速(< 5 工程)に構築した。骨格に導入した共役ジエンを異性化させ、モチーフとした **3, 4** に類似した化合物群を創製した。北里大学と共同で抗原虫感染症活性を評価し、*cis-cis* の立体化



学で縮環した化合物群が高い抗トリパノソーマ活性を発現することを見出した。更に、三環性ジエン群と一重項酸素との環状付加により、ペルオキシド架橋の導入位置と立体化学のバリエーションを創出した。**1** に匹敵する高い酸化度と構造の複雑性を有するアルテミシニンアナログ群を7工程で合成するプロセスを開発した。合成アナログの中から、**1** や既存のアフリカ睡眠病治療薬(スラミン、エフロルニチン)と同等かより強力な抗トリパノソーマ活性を発現するリード化合物群 **5-7** の創製に成功した。骨格や立体化学を指標とした系統的な構造活性相関を実施し、ファルマコフォアの三次元構造を合理的に把握するアプローチを具現化した。

第三章では、元素改変戦略を考案して 6-アザ-アルテミシニン **10** を設計し、短段階で迅速に合成するプロセスを開発した。骨格の 6 位の不斉炭素を窒素に置換することで、①構造多様化が可能で柔軟な迅速合成 (3-5 工程)、②水溶性・薬物動態の改善、③ハイブリッド分子の創製、を実現する計画を立てた。構築ブロックとしてアミン **11** を活用することで、アセチレン **12**, アルデヒド **13** を集積化し、1,6-エンイン **14** を一段階で合成した。次に、鍵中間体としたビニルシラン **15-syn**, **17-anti** をそれぞれ立体選択的に構築する合成ルートを開発した。まず、1,6-エンイン **14** に低原子価チタンを作用させ、メタラサイクル中間体を経由する環化(**14**→**15**)を検討した。窒素上の置換基や反応温度を最適化し、縮環部立体化学を天然型 *syn* 配置に制御し(*syn/anti* = 16/1)、所望の **15-syn** を良好な収率(71%)で得ることに成功した。一方、ヨウ化ビニル **16** の分子内ラジカル環化では、**17-anti** が高立体選択的(*syn/anti* = 1/9)に得られた。ビニルシラン **15-syn** についてオゾン の 1,3-双極子付加を起点とした四環性ペルオキシドの構築を検討した。酸性条件でケタールと *t*-ブチル基を除去すると同時にアミン部位をトリフルオロ酢酸塩とした基質を採用することで、オゾンによるアミンの酸化を防止した。反応時間を注意深く制御したオゾン酸化の後、連続的なアセタール環化を進行させ、目的の四環性ペルオキシドの構築に成功した。アミンの特性を利用した多成分集積化と低原子価チタンを活用する立体選択的環化を鍵工程として、構築ブロックから僅か四工程で **18**, **19** の合成に成功した。更に、窒素保護基の除去とメチル基導入により、9-デメチル-6-アザ-アルテミシニン **20** を合成することができた。



第四章では、本研究で設計・合成したアルテミシニンアナログ群について、抗マラリア活性を評価した(北里大学の共同研究)。第二章で骨格改変合成したアナログ群の抗マラリア活性は **1** に遠く及ばなかったが、9-デメチル-6-アザ-アルテミシニン群の中で、6 位に脂溶性の側鎖を導入した 2 種の化合物が、強力な抗マラリア活性を発現することを見出した (**18**: IC_{50} = 0.035 μM , **19**: IC_{50} = 0.055 μM)。ラセミ体で評価したこれらの *In Vitro* 抗マラリア活性は、**1** (IC_{50} = 0.021 μM) とほぼ同等であり、マラリア原虫に対して優れた選択性(Selectivity Index = >1000)を有していた。げっ歯類マラリア感染マウスを用いた *In Vivo* の活性試験の結果、**19** の原虫増殖抑制効果は 96% (腹腔内投与, 30 mg/kg x 4)で、水溶性を改善した半合成抗マラリア薬 **2** に匹敵する活性(94%)を示した。このように構築ブロックの集積化からわずか四工程で、優れた抗マラリア活性を有する 6-アザ-アルテミシニン群の創製に成功した。天然物の構造と機能の知見を踏まえて生理活性分子群を創造する骨格改変/元素置換合成戦略の概念を実証し、抗マラリア剤の低コスト供給やハイブリット分子創製への基盤を整えることができた。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 澤 村 正 也
副 査 教 授 及 川 英 秋
副 査 教 授 原 正 治
副 査 准教授 大 栗 博 毅

学 位 論 文 題 名

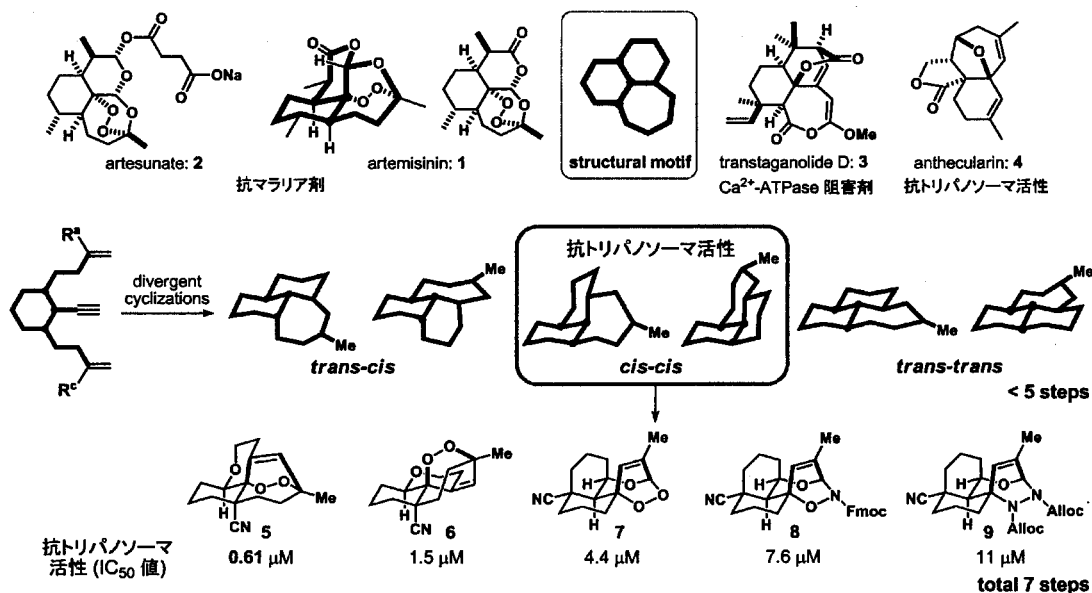
抗マラリア剤アルテミシニンモチーフとした低分子群の 短段階合成と構造多様化

抗マラリア剤アルテミシニン **1** は漢方薬青蒿の薬効成分であり、古くから中国で発熱患者の治療に活用されてきた。ヒト正常細胞への副作用がほとんど無く、既存の抗マラリア剤クロロキンに耐性を持つ原虫にも有効であるため、近年ではマラリア治療の第一選択薬となっている。**1** はセスキテルペンラクトン骨格にペルオキシド架橋が導入された複雑な四環性構造を持ち、**1** の供給は現在でも植物からの抽出に依存している。全合成例も複数報告されているが、いずれも多段階を要し現実的なコストでの供給は困難である。現状では、**1** のラクトン部位を化学変換し、水溶性や薬物動態を改善した誘導体アーテスネート **2** 等が治療に使われている。

以上の状況を踏まえて本研究では、アルテミシニン **1** やトランスタガノリド **3**、アンセキュラリン **4** 等の生理活性セスキテルペンを構造モチーフとして、天然物類似低分子ライブラリーを設計している。①骨格や縮環部立体化学を系統的に多様化する合成戦略や、②骨格を構成する炭素を窒素へ置換する元素置換戦略を提案・実現し、熱帯感染症(マラリア・アフリカ睡眠病)の治療に有望なリード化合物の創製に取り組んでいる。

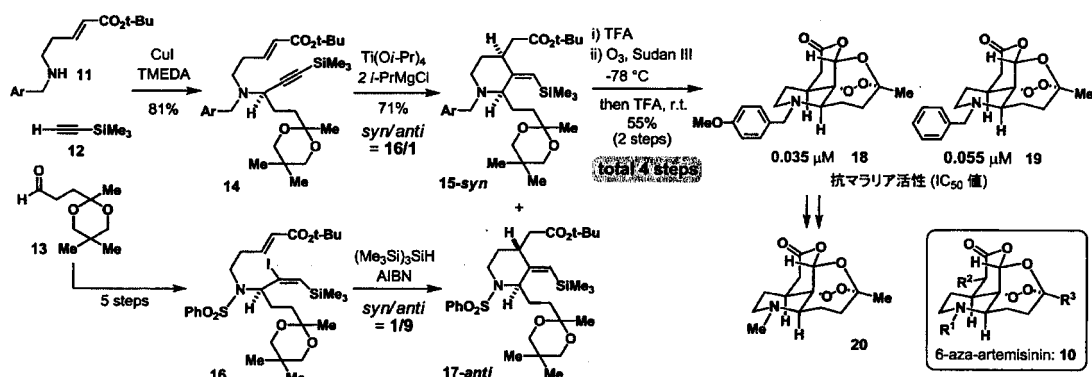
第一章では、マラリアの現状と化学療法に関する背景を記載している。マラリア原虫が感染した赤血球に対して **1** が選択的に作用する機構として、(1) Ca^{2+} -ATPase 阻害、(2) 原虫内で高濃度の Fe^{2+} によるペルオキシドの還元的開裂→ラジカル種発生→局所的な酸化ストレス亢進、等が提唱されている。**1** に関する合成研究は、(1) 多段階全合成、(2) リード最適化を指向した誘導体合成、(3) 構造を簡略化した環状ペルオキシドアナログの創製に終始してきた。**1** の前駆体アルテミシニック酸を遺伝子改変酵母で人工的に生合成する試みが報告されているが、生産効率の改善が不可欠といえる。

第二章では、 Ca^{2+} -ATPase を阻害する **1**, **3** や抗トリパノソーマ活性を示す **4** 等のセスキテルペンに共通の三環性構造をモチーフとした骨格改変合成プロセスを開発している。縮環部三連続 sp^3 炭素の立体化学を系統的に改変す



るアプローチやジェンインの環化様式を制御して骨格を多様化する合成戦略を採用し、三環性化合物群を迅速(< 5工程)に構築した。骨格に導入した共役ジェンを異性化させ、モチーフとした **3**, **4** に類似した化合物群を創製した。北里大学と共同で抗原虫感染症活性を評価し、*cis-cis* の立体化学で縮環した化合物群が高い抗トリパノソーマ活性を発現することを見出した。更に、三環性ジェン群と一重項酸素との環状付加により、ペルオキシド架橋の導入位置と立体化学のバリエーションを創出した。**1** に匹敵する高い酸化度と構造の複雑性を有するアルテミシニンアナログ群を7工程で合成するプロセスを開発した。合成アナログの中から、**1** や既存のアフリカ睡眠病治療薬(スラミン、エフロルニチン)と同等かより強力な抗トリパノソーマ活性を発現するリード化合物群 **5-7** の創製に成功した。骨格や立体化学を指標とした系統的な構造活性相関を実施し、ファルマコフォアの三次元構造を合理的に把握するアプローチを具現化している。

第三章では、元素置換戦略を考案して6-アザ-アルテミシニン **10** を設計し、短段階で迅速に合成するプロセスを開発した。骨格の6位の不斉炭素を窒素に置換することで、①構造多様化が可能で柔軟な迅速合成(3-5工程)、②水溶性・薬物動態の改善、③ハイブリッド分子の創製、を実現する計画を立てた。構築ブロックとしてアミン **11** を活用することで、アセチレン **12**, アルデヒド **13** を集積化し、1,6-エンイン **14** を一段階で合成した。次に、鍵中間体としたビニルシラン **15-syn**, **17-anti** をそれぞれ立体選択的に構築する合成ルートを開発した。まず、1,6-エンイン **14** に低原子価チタンを作用させ、メタラサイクル中間体を経由する環化(**14**→**15**)を検討した。窒素上の置換基や反応温度を最適化し、縮環部立体化学を天然型 *syn* 配置に制御し(*syn/anti* = 16/1)、所望の **15-syn** を良好な収率(71%)で得ることに成功した。一方、ヨウ化ビニル **16** の分子内ラジカル環化では、**17-anti** が高立体選択的(*syn/anti* = 1/9)に得られた。ビニルシラン **15-syn** についてオゾンの1,3-双極子付加を起点とした四環性ペルオキシドの構築を検討した。酸性条件でケタールと *t*-ブチル基を除去すると同時にアミン部位をトリフルオロ酢酸塩とした基質を採用することで、オゾンによるアミンの酸化を防止した。反応時間を注意深く制御したオゾン酸化の後、連続的なアセタール環化を進行させ、目的の四環性ペルオキシドの構築に成功した。アミンの特性を利用した多成分集積化と低原子価チタンを活用する立体選択的環化を鍵工程として、構築ブロックから僅か四工程で **18**, **19** を合成し、更に、窒素保護基の除去とメチル基導入により、9-デメチル-6-アザ-アルテミシニン **20** を合成した。



第四章では、本研究で設計・合成したアルテミシニンアナログ群について、抗マラリア活性を評価した(北里大学の共同研究)。第二章で骨格改変合成したアナログ群の抗マラリア活性は**1**に遠く及ばなかったが、9-デメチル-6-アザ-アルテミシニン群の中で、6位に脂溶性の側鎖を導入した2種の化合物が、強力な抗マラリア活性を発現することを発見した(**18**: $IC_{50} = 0.035 \mu M$, **19**: $IC_{50} = 0.055 \mu M$)。ラセミ体で評価したこれらの*In Vitro*抗マラリア活性は、**1** ($IC_{50} = 0.021 \mu M$)とほぼ同等であり、マラリア原虫に対して優れた選択性(Selectivity Index = >1000)を有していた。げっ歯類マラリア感染マウスを用いた*In Vivo*での活性試験の結果、**19**の原虫増殖抑制効果は96%(腹腔内投与、30 mg/kg x 4)で、水溶性を改善した半合成抗マラリア薬**2**に匹敵する活性(94%)を示した。このように構築ブロックの集積化からわずか四工程で、優れた抗マラリア活性を有する6-アザ-アルテミシニン群の創製に成功した。天然物の構造と機能の知見を踏まえて生理活性分子群を創造する骨格改変/元素置換合成戦略の概念を実証し、抗マラリア剤の低コスト供給やハイブリット分子創製への基盤の整備を達成している。

これを要するに、著者は、抗マラリア剤アルテミシニンをモチーフとした低分子群の短段階合成と構造多様化に成功し、有機合成化学のみならず、薬学、臨床医学、化学生物学に新たな展開を期待させる成果をあげた。

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があるものと認める。