4　元素置換戦略による天然物アナログ迅速合成と機能創出	大栗　博毅

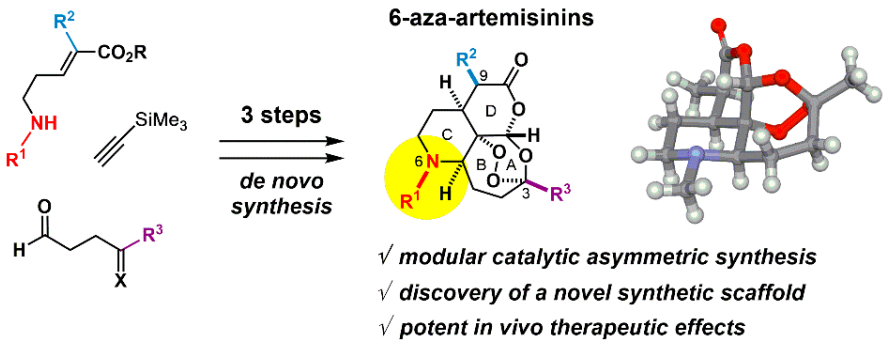
【目的】漢方薬の有効成分であるアルテミシニンは、赤血球内に侵入したマラリア原虫をほぼ一掃する薬効を示し、マラリア治療に革新をもたらした。最近では、がんや他の感染症の治療に適用する試みも活発になってきた。従来、アルテミシン類を誘導化するアプローチとしては、ラクトンを活用する半合成法にほぼ限定されていた。次世代の抗感染症・制ガン剤開発や分子プローブ創出を目指し、本研究ではアルテミシニン系薬剤の構造を簡略化せずに窒素官能基や非天然型置換基を導入した 6ーアザーアルテミシニン群を設計した。四環性母骨格 6 位に存在する不斉炭素を窒素に置き換える“元素置換戦略”により、①迅速合成、②骨格の改変、③置換基の多様化、④母骨格の水溶性改善を目論んだ。実際、三つの構築ブロック連結から 3 工程で 6ーアザーアルテミシニンを触媒的不斉合成するプロセスを開発した。*De novo* 化学合成した化合物群の中からアルテミシニンよりも優れた抗マラリア活性を発現するリード化合物の創製に成功した。

【方法】窒素の反応性を活用したアプローチで、シンプルな三つのセグメントから僅か 3 工程の変換で 6ーアザーアルテミシニンの四環性骨格を触媒的不斉合成するプロセスを開発した。キラルな銅触媒でアミン・アルデヒド・アセチレンを一挙に集積化する三成分連結反応を適用し、高い光学純度のエンイン環化前駆体を高収率で得た。次に、三置換ビニルシランを導入しながらピペリジン環を構築した。低原子価チタンを活用するエンインの環化により、ピペリジン骨格を高ジアステレオ選択的に構築できることを見い出した。ペルオキシド架橋を持つ縮環骨格の構築については、i）カルボニル保護基の除去、ii）アミノ基の保護、iii）ビニルシランとオゾンとの 1，3-双極子付加、iv）シリルペルオキシドとアルデヒドの導入、v）連続的なアセタール形成をワンポットで進行させるアプローチを実現した。これにより、構築ブロックの連結から僅か 3 工程で 6ーアザーアルテミシニン骨格を触媒的不斉合成することができた。

【結果】合成した四環性骨格に導入した窒素を足掛かりとして還元的アミノ化やアシル化を施し、ベンジル基やベンゾエートを連結した 6ーアザーアルテミシニン群を合成した。*N*-メチル基を導入した化合物の X 線結晶構造解析から、6ーアザーアルテミシニンがアルテミシニンとほぼ同一の三次元構造を持つことが分かった。

北里大学と共同で、マラリアを感染させたマウスモデルに 6ーアザーアルテミシニン群をそれぞれ 1 日おきに四回投与（15 mg/kg x 4）し、*in vivo* でのマラリア治療効果をアルテミシニンや半合成薬アルテスネートと比較した。窒素にベンジル型の置換基を導入した 6ーアザーアルテミシニン群では、アルテミシニンよりも優れた治療効果を発現することを発見した。更に、9 位メチル基、6 位を *N*-ベンジル基としたアザーアルテミシニンは、マラリア化学療法の切り札となっている第一選択薬アルテスネートとほぼ同等の治療効果を示した。赤血球へ感染するマラリア原虫の成長や増殖を強力に阻害し、即効性が高く副作用の少ない抗マラリア治療効果が確認された。天然物の構造と機能の知見に基づいた元素置換戦略により、第一選択薬に比肩する抗マラリア活性を示す 6ーアザーアルテミシニン群の設計と *de novo* 化学合成に成功した。

6ーアザーアルテミシニン群の設計とモジュラー式迅速合成プロセス開発



4. 元素置換戦略による天然物アナログ迅速合成と機能創出

大栗　博毅

東京農工大学 大学院工学研究院 応用化学部門

Key words : artemisinin, synthesis design, natural products, catalytic asymmetric synthesis, malaria

緒　言

漢方薬の有効成分であるアルテミシニン **1** は、赤血球内に侵入したマラリア原虫をほぼ一掃する薬効を示し、マラリア治療を革新した。最近では、がんや他の感染症へ適用する研究も活発となっている。以前申請者らは、ペルオキシド架橋を有する **1** の骨格や立体化学を改変した第一世代アナログ群を設計し、短段階（<7 工程）合成した［1］。**1** よりも優れた抗アフリカ睡眠病活性を示すリード化合物を創製し、天然物をモチーフとした“骨格多様化合成”の概念を実証した［2］。しかし、天然物の構造を簡略化した第一世代アナログ群の抗マラリア活性は **1** に遠く及ばなかった。

薬剤として **1** の脂溶性が短所であり、水溶性を改善した半合成誘導体アルテスネート **3** が現時点で最も優れた抗マラリア薬である。全合成法にも進展が見られるが［3］、アルテミシニン類の供給法で最有望視されているのは合成生物学的なアプローチである（図 1a）。Keasling らは生合成前駆体アルテミシニック酸 **2** を遺伝子改変酵母で生産し、これに四工程の化学変換を施して、**1** を半合成している［4］。これまでアルテミシン類の誘導化は、ラクトンを活用するアプローチ（**1**→**3**, **5**）にほぼ限定されていた。また、短段階で化学合成できる抗マラリア剤として、活性発現に重要なトリオキサン部位に着目して構造を大幅に簡略化した OZ439（**4**）等が開発されている。本研究では、アルテミシニン系薬剤の構造を簡略化せずに窒素官能基や非天然型置換基を導入したアザ-アルテミシニン群を設計した（図 1b）。6 位不斉炭素を窒素に置き換える"元素置換戦略"により、①迅速合成、②骨格の改変、③置換基の多様化、④母骨格の水溶性改善を実現した。実際、三つの構築ブロック連結から 3 工程で 6−アザーアルテミシニンを触媒的不斉合成するプロセスを開発した。*De novo* 化学合成した化合物群の中から **1** よりも優れた抗マラリア活性を発現するリード化合物の創製に成功した。

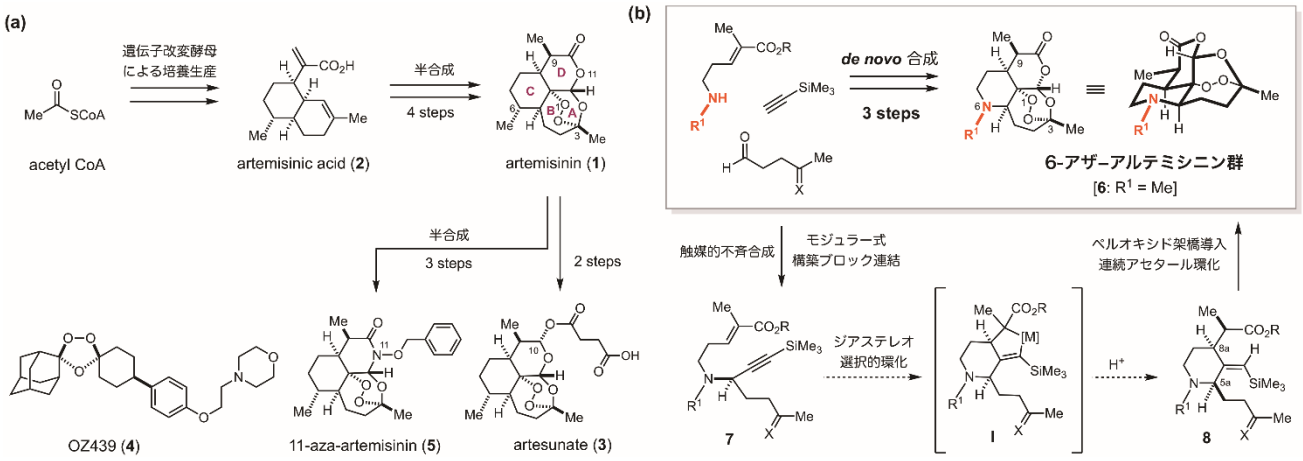


図 1.（a）アルテミシニン類の供給法　(b) 6−アザーアルテミシニン群の分子設計

方法および結果

1.［触媒的不斉合成プロセスの開発］

窒素の反応性を活用したアプローチで、シンプルな三つのセグメントから僅か 3 工程の変換で 6−アザーアルテミシニンの四環性骨格を触媒的不斉合成するプロセスを開発した（図 2）。アミン **10a**、アルデヒド **12** とトリメチルシリルアセチレンを一挙に集積化する触媒的不斉三成分連結反応［5］で高い光学純度のエンイン環化前駆体 **13a** を高収率で得た。次に、三置換ビニルシランを導入しながらピペリジン環 **14** を構築した。低原子価チタン［6］を活用すると連続する立体化学（**8a**，**9** 位）を高ジアステレオ選択的に構築できることを見い出した。ペルオキシド架橋を持つ縮環骨格の構築については、i）カルボニル保護基の除去、ii）アミノ基の保護、iii）ビニルシランとオゾンとの 1，3-双極子付加、iv）シリルペルオキシドとアルデヒドの導入、v）連続的なアセタール形成をワンポットで進行させることにした。まず、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てオゾンによるアミンの酸化を防止した。ビニルシラン部位へのオゾンのジアステレオ選択的な 1，3-双極子付加の後、シリル基の転位を伴いながらモルオゾニド（III）を環開裂させ、シリルペルオキシドとアルデヒドを一挙に導入した［7］。そのまま、酸性条件下で連続的に環状アセタールを形成させ **16** を構築した。このように構築ブロックの連結から僅か 3 工程で 6−アザーアルテミシニン骨格を触媒的不斉合成することができた。

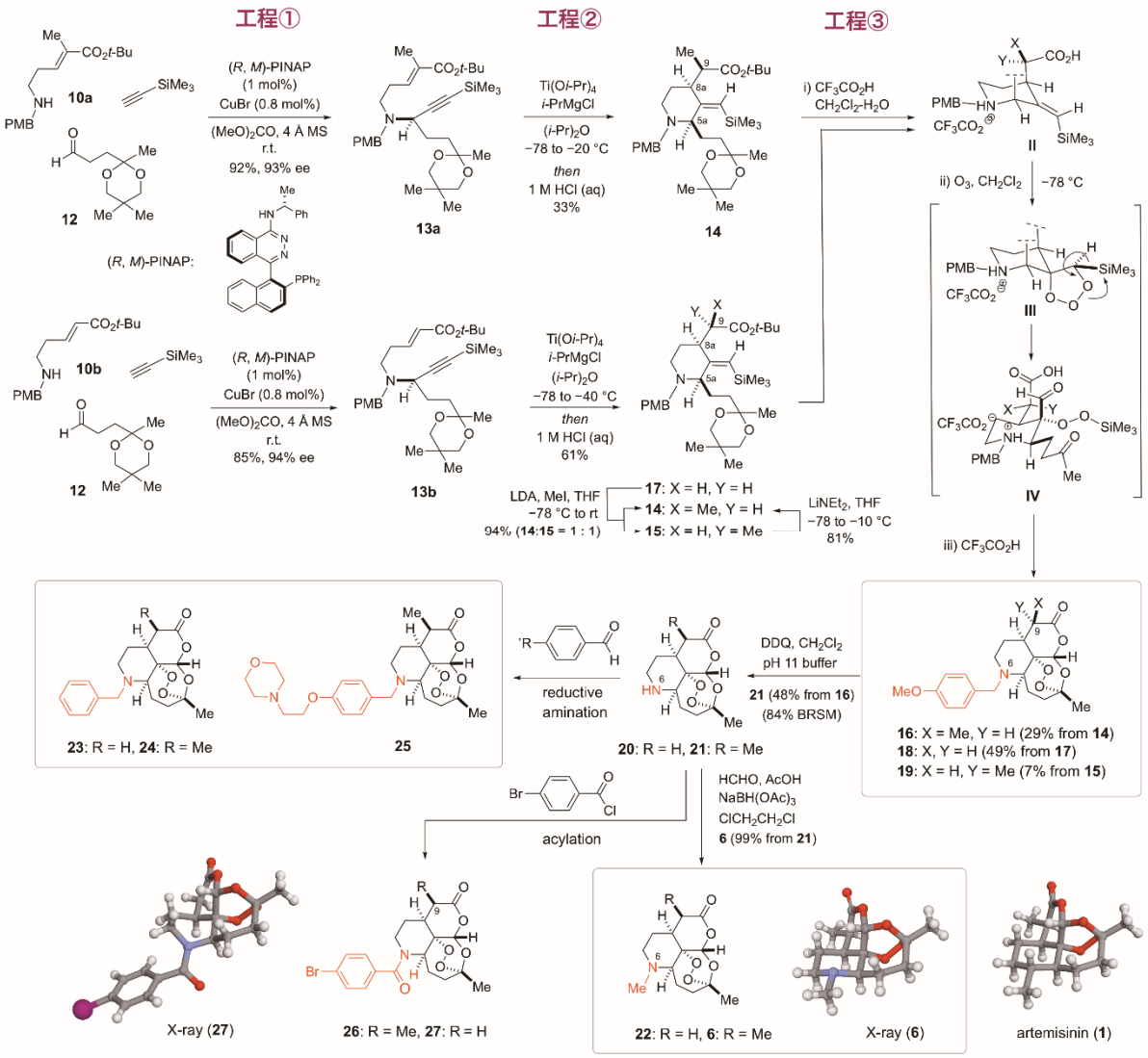


図 2.　6−アザーアルテミシニン群の迅速合成プロセスと窒素へ置換基を導入した誘導体の創製

上述の 3 工程合成法では、エンイン環化で得られる **14** が低収率（33%）であった。反応点近傍の立体障害が主な原因と考えて、9 位のメチル基を除去した環化前駆体 **13b** を設計し、アミン **10b** から合成した。期待通り、エンイン環化（収率 33% → 61%）の効率を大幅に改善し、得られた **17** のメチル化と 9 位のエピ化を経て鍵中間体 **14** を収率良く得る別ルートも開発することができた。更に、ペルオキシド架橋を有する四環性の **16** の *p*-メトキシベンジル（PMB）基を酸化的に除去した後、還元的アミノ化で 6−アザーアルテミシニン **6** の合成に成功した。X 線結晶構造解析から、窒素に導入したメチル基は擬エクアトリアル配座を占め、**6** がアルテミシニン **1** とほぼ同一の三次元構造を持つことが分かった。窒素原子を活用した還元的アミノ化やアシル化によって、ベンジル基やベンゾエートを連結した 6−アザーアルテミシニン群を合成した。

2.［抗マラリア活性］

北里大学と共同で、6−アザーアルテミシニン群の *in vitro* 抗マラリア活性を評価した（表 1）。構造を簡略化した筆者らの第一世代アナログ群［1］とは対照的に、母骨格 6 位を元素置換した 6−アザーアルテミシニン **6** はアルテミシニン **1** と同程度の強力な抗マラリア活性（IC_{50} = 32 nM）を発現した（entry 3）。9 位メチル基を持たないアナログ群では一般に **1** よりも活性が大幅に低下したが （entry 10）、窒素にベンジル型置換基を導入した **16**, **23**, **24**, **25** 等では、強力な抗マラリア活性を示すことを見出した（entry 4-6, 9）。一方、6 位を二級アミンとしたり（entry 7）、アシル側鎖を導入すると抗マラリア活性が低下し、窒素上の置換基が活性に大きな影響を及ぼすことが分かった。また、6−アザーアルテミシニンのヒト培養細胞に対する毒性は、**1** と同様、ほとんど問題にならない程度であった。

表 1. *in vitro* 抗マラリア活性、細胞毒性、Selectivity Index

entry		抗マラリア活性 a) IC_{50} (nM)	細胞毒性 b) IC_{50} (nM)	Selectivity Index c)
1	**1**	21	159,987	7,618
2	**3**	10	37,001	3,700
3	**6**	32	37,378	1,168
4	**16**	69	203,288	2,946
5	**24**	86	160,480	1,866
6	**25**	33	35,572	1,078
7	**21**	267	136,726	512
8	**18**	91	89,233	981
9	**23**	67	49,451	738
10	**22**	1,043	27,330	26
11	**19**	51	117,679	2,307

a）*P. falciparum* K1 株　b）MRC-5（ヒト）細胞

c）Selectivity index［細胞毒性/抗マラリア活性］

マラリアを感染させたマウスモデル 6−アザーアルテミシニン（**16**, **23**, **24**, **25**）をそれぞれ 1 日おきに四回投与（15 mg/ kg x 4）し、*in vivo* でのマラリア治療効果をアルテミシニン **1** や半合成薬アルテスネート **3** と比較した（図 3）。強力な *in vitro* 活性を示した **16** であったが、*in vivo* 試験では **1** に及ばない活性にとどまった。一方、窒素にベンジル型の置換基を導入した **23**, **24**, **25** では、アルテミシニン **1** よりも優れた治療効果を発現することを発見した。更に、6 位ベンジル基、9 位メチル基を有する **24** では、マラリア化学療法の切り札となっている第一選択薬アルテスネート **3** とほぼ同等の治療効果を示した。赤血球へ感染するマラリア原虫の成長や増殖を強力に阻害し、即効性が高く副作用の少ない抗マラリア治療効果が確認された。天然物の構造と機能の知見に基づいた元素置換戦略により、第一選択薬に比肩する抗マラリア活性を示す 6−アザーアルテミシニンの *de novo* 合成に成功した［8］。*N*-ベンジルにモルフォリンエトキシ基を連結して置換基を大幅に伸長した **25** でも良好な治療効果が確認されたことから、これまで手付かずとなっていた 6 位近傍の構造改変から創薬リード化合物群を創出できることを実証した。

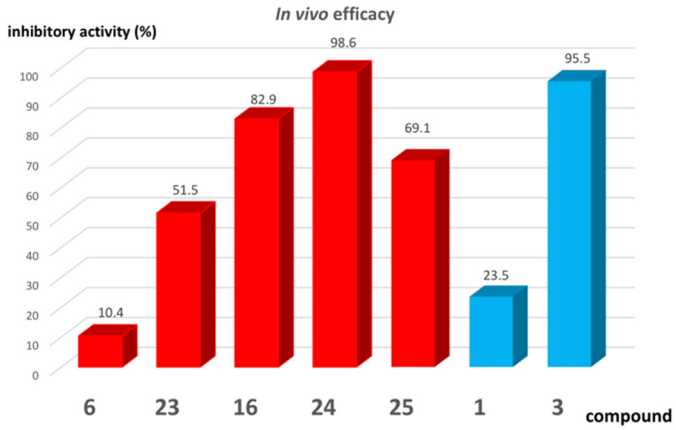


図 3. *in vivo* 抗マラリア活性試験（マラリア原虫の赤血球への感染を阻害する活性）

考　察

天然物の母骨格に存在する不斉炭素を他の原子に改変する“元素置換戦略”により、骨格の迅速合成と薬理機能の改善を合理的に実現することができた。触媒的不斉短段階合成プロセスの改良と更なる構造活性相関研究が不可欠であるが、次世代の抗感染症薬として有望なリード化合物を創製できた。多環性母骨格の不斉炭素を“ポイントミューテーション”する分子設計・短段階合成戦略は、他の複雑な構造の天然物群にも一般性を持って適用できるはずである。

天然物をモチーフとする骨格多様化合成研究では、化学者の直感や想像力を働かせて分子構造を改変し、新奇な三次元構造と機能を持つ生物活性分子群を創製できる。生合成プロセスの枠組みにとらわれず、有機合成化学を駆使した骨格構築・官能基変換を自在に適用できるので、未踏のケミカルスペースをしなやかに開拓できる。多官能性の生体機能性化合物群を設計・創出するアプローチとして、合成生物学的なアプローチと相補的に発展していくであろう。天然物に学んで分子構造と機能を進化させていく研究はまだ始まったばかりである。

共同研究者・謝辞

北海道大学及川研究室で本研究に着手し、比留間貴久博士、Bonepally Karnakar Reddy 博士が中心となって合成法を開発した。溝口玄樹博士、落合恭平修士、鈴木峻修士らの成果に加え、現在では、高橋紀人（D1）、松岡直弥（M2）、小井ひかり（M1）らが発展させている。抗マラリア活性については、北里大学の岩月正人先生、石山亜紀博士、穂苅玲博士、乙黒一彦先生、大村智先生との共同研究の賜物である。多大な御支援を賜りました上原記念生命科学財団に厚く御礼申し上げます。

文　献

1) Oguri, H. *et al.* Generation of anti-trypanosomal agents through concise synthesis and structural diversification of sesquiterpene analogues. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7096-7105. PMID: 21413715
2) Oguri, H. Biomimetic assembly lines producing natural product analogs: Strategies from a versatile manifold to skeletally diverse scaffolds. *Chem. Rec.* **2016**, *16*, 652-666. PMID: 26828424
3) Zhu, C. & Cook, S. P. A concise synthesis of (+)-artemisinin. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 13577-13579. DOI:10.1021/ja3061479

4) Paddon, C. J. *et al.* High-level semi-synthetic production of the potent antimalarial artemisinin. *Nature* **2013**, *496*, 528-532. (2013). PMID: 23575629

5) Knöpfel, T. F., Aschwanden, P., Ichikawa, T., Watanabe, T. & Carreira, E. M. Readily available biaryl *P, N* ligands for asymmetric catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 5971-5973. DOI:10.1002/ahie.200461286

6) Urabe, H., Suzuki, K. & Sato, F. Intramolecular cyclization of 2,7- or 2,8-bis-unsaturated esters mediated by (η^2-propene)Ti(O-*i*-Pr)$_2$. Facile construction of mono- and bicyclic skeletons with stereoselective introduction of a side chain. A synthesis of *d*-Sabinene. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 10014-10027. DOI:10.1099/ijs.0.01003-0

7) Avery, M. A., Chong, W. K. M. & Jennings-White, C. Stereoselective total synthesis of (+)-artemisinin, the antimalarial constituent of *Artemisia annua* L. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 974-979.

8) Reddy, B. K.; Hiruma, T.; Mizoguchi, H.; Ochiai, K.; Suzuki, S.; Oikawa, H.; Ishiyama, A.; Hokari, R.; Iwatsuki, M.; Otoguro, K.; Ōmura, S.; Oguri, H. *Org. Lett*, **2018**, 20, 4667-4671.