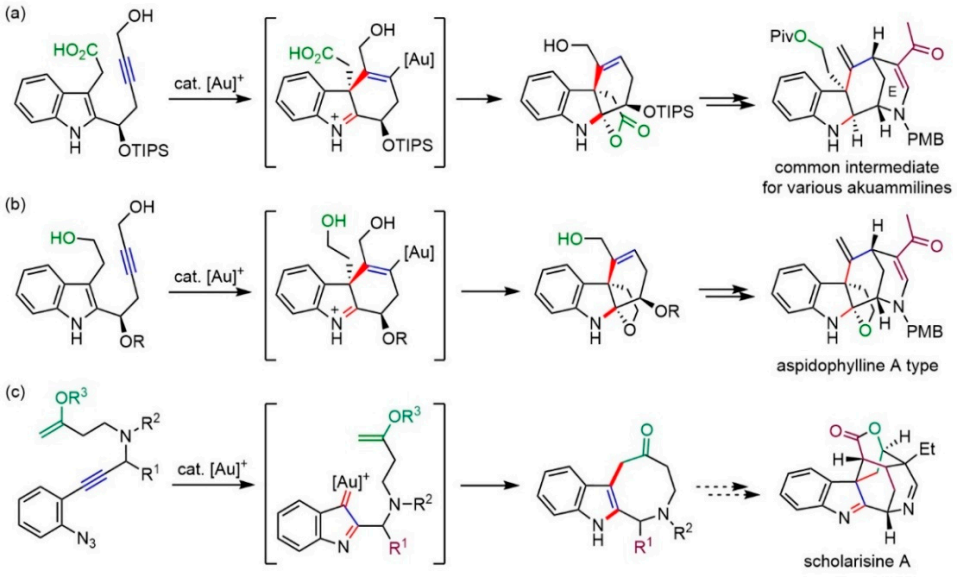
6　アクアミリンアルカロイドの合成と中分子創薬への展開	大野　浩章

【目的】近年の創薬研究において、高い sp^3 性を有する天然物誘導体が再評価されている。中でもアルカロイド誘導体は、酵素や受容体などとの水素結合や疎水結合が適度に期待できるとともに、医薬品周辺に未開拓のケミカルスペースを有するため、医薬品シーズとしての期待が大きい。しかしながら、複雑な骨格を有する天然物の誘導化の難しさが、天然物創薬における大きな課題となっている。一方、現在の創薬研究は新モダリティへの展開が盛んに行われている。ペプチドや核酸をはじめとする中分子や、生体高分子を利用するバイオ医薬品に関する多く創薬成功事例が報告されているが、利用できる分子種に大きな偏りがあることが現在の中分子創薬の問題点であると考えられる。そこで我々は、複雑な天然物骨格を効率的に構築する合成法の開発と、中分子化によるライブラリー構築法の開発によって、現代の創薬研究の課題を解決する糸口を得ることを目的として、本研究に着手した。

【方法】本研究では、アクアミリンアルカロイドの多様性指向型合成法およびアゾシン縮環型インドール骨格構築法の開発と、中分子化法の検討を行った。最初に、我々が最近開発した四環性インドレニン構築法および α-イミノ金カルベンの生成を基盤とするアリール化反応を基盤として、金触媒を用いた連続環化反応によるアクアミリンアルカロイド型骨格の構築を検討した。さらに、クリックケミストリーによるハイブリッド化を基盤とする中分子型アルカロイドライブラリーを構築するための基礎的研究として、様々なアルキニル化ペプチドを合成し、入手容易な天然物や医薬品の官能基導入とハイブリッド化を実施した。

【結果】カルボン酸部位を有するアルキニルインドールに対して金触媒を作用させたところ、目的の連続環化反応が立体選択的に進行し、四環性インドリンが良好な収率で得られることを見出した（図 a）。引き続き、得られた生成物中のラクトン部を利用することで、様々なアクアミリンアルカロイドに誘導しうる中間体に誘導した。一方、求核部位として一級水酸基を有するアルキニルインドールを用いると、THF 縮環部を有する四環性インドリンを立体選択的に生成した（図 b）。本化合物は、アスピドフィリン A 型の構造を有する五環性インドールに誘導することができた。さらに、アジドアルキンの連続環化反応によって、アゾシン縮環インドールが得られることを見出した（図 c）。中分子化法の開発においては、抗ウイルス活性を持つことが知られている短鎖ペプチドと低分子化合物のハイブリッド化を行い、有望な抗ウイルス活性を有する化合物を含むハイブリッド化合物の混合物を得た。

アクアミリンアルカロイドの合成と中分子化に資する金触媒連続環化反応



6. アクアミリンアルカロイドの合成と中分子創薬への展開

大野　浩章

京都大学 大学院薬学研究科 創薬有機化学分野

Key words：インドールアルカロイド，金触媒，連続反応，ケミカルスペース，中分子

緒　言

創薬研究を取り巻く環境は、これまで以上に厳しさを増している。従前の化合物ライブラリーから創薬リードを見出すことが一層難しくなっていることに加え、有望な創薬ターゲットが枯渇しつつあることも大きな問題となっている。これまでのライブラリー化合物は、合成の容易さから、ケミカルスペースが平面的な低分子に偏っていた。一方で、医薬品の標的分子は三次元構造を有するため、最近は高い sp^3 性を有する天然物誘導体が再評価されている。中でもアルカロイド誘導体は、酵素や受容体などとの水素結合や疎水結合が適度に期待できるとともに、医薬品周辺に未開拓のケミカルスペースを有するため、医薬品シーズとしての期待が大きい。しかしながら、複雑な骨格を有する天然物の誘導体化の難しさが、天然物創薬における大きな課題となっている。

現在の創薬研究は新モダリティ（新しい分子種や治療手段）への展開が盛んに行われている。ペプチドや核酸をはじめとする中分子や、生体高分子を利用するバイオ医薬品に関する多く創薬成功事例が報告されている。これらは低分子医薬品と比較すると、多様性指向型合成が容易であり、タンパク質間相互作用を制御しうる相互作用面の大きさも魅力的である。一方で、これらのモダリティにおける課題は、高い生産コストや生体内における安定性、薬物送達の問題である。さらに重要な点として、現在利用されている中分子は、基本的にアミノ酸、核酸、または糖の多量体であるため、分子種に大きな偏りがある。

以上のことから我々は、複雑な天然物骨格を効率的に構築する合成法を開発し、中分子化を伴う変換によってライブラリーを構築することができれば、現代の創薬研究の課題を解決する糸口が得られると考え、本研究に着手した。

方　法

1. アクアミリンアルカロイド誘導体の多様性指向型合成

アクアミリンアルカロイドは、伝統医薬 *Alstonia scholaris* から単離されたアルカロイドで、特徴的なかご状構造と幅広い生物活性により多くの合成化学者の注目を集めている（図 1）。我々は最近、プロパルギル基を有するテトラヒドロ-β-カルボリン誘導体に金触媒を作用させると、ストリクタミンの基本骨格を有する四環性インドレニンを効率的に構築できることを見出し、ストリクタミンの形式全合成に成功した［1］。この研究成果を基盤として、本項目では金触媒を用いた連続環化反応によるアクアミリンアルカロイド型骨格の構築を検討した。

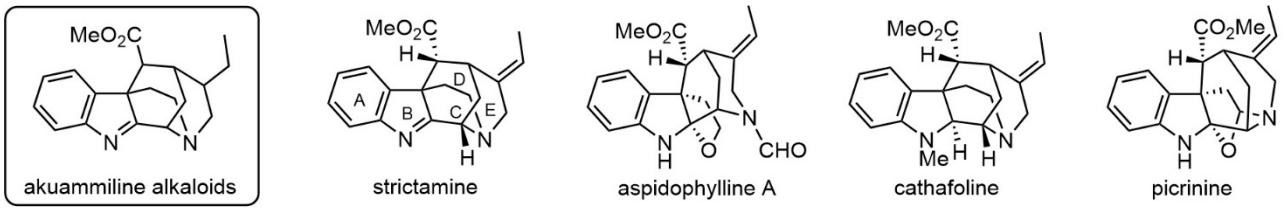


図 1. アクアミリンアルカロイド

インドールまたはインドレニンに縮環した複雑な籠状構造を有する。C 環部はバリエーションに富んでいるため、多様性指向型合成法の開発が望まれている。

2. アゾシン縮環型インドール骨格の構築

アゾシン縮環インドールは、アクアミリンアルカロイドを含む生物活性天然物に広く見られる構造である。一方で、八員環構造はエンタルピー的及びエントロピー的要因により、構築に困難が伴う場合が多い。我々は最近、α-イミノ金カルベンを活性種とする縮環インドールの合成法を開発している。例えば、アジドアルキン **1** に対して金触媒を作用させると、カルベン中間体 **A** に対する 1,5-ヒドリドシフトと、生じたカチオン **B** に対する環化反応が良好に進行し、C-環化体 **2** または N-環化体 **3** が効率的に得られることを報告している（図 2a）［2］。さらに、求核部位としてアリール基を有する **4** を金触媒反応に付すと、α-イミノ金カルベン **C** に対するアリール化が進行し、アゾシン縮環型インドール **5** が得られることを明らかにしている（図 2b）［3］。本研究ではこれらの反応を基盤として、α-イミノ金カルベンに対するアルケニル化によって、scholarisine 類に存在するアゾシン縮環インドール骨格を構築することを計画した。

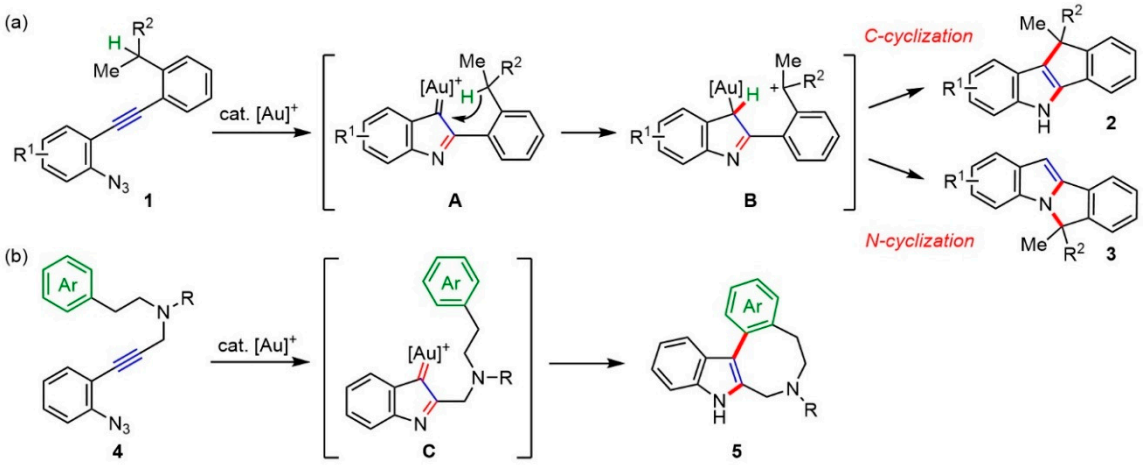


図 2. α-イミノ金カルベン中間体を利用した我々の最近の研究

金カルベンの高い求電子性を利用することで、連続環化反応を実現した。

a）ヒドリド転位に続くC-環化またはN-環化連続反応による縮環インドールの合成。

b）分子内アリール化によるアゾシン縮環型インドールの合成。

3. 環状ペプチドとのハイブリッド化による新しい創薬モダリティの創出

我々は、アジドやアルキンなどの官能基化を導入したアルカロイド誘導体を合成し、クリックケミストリーを用いたハイブリッド化により、中分子型アルカロイドライブラリーを構築することを計画している。本研究項目では、その基盤構築を目的として、様々なアルキニル化ペプチドを合成し、入手容易な天然物や医薬品の官能基導入とハイブリッド化を検討した。

結果および考察

1. アクアミリンアルカロイド誘導体の多様性指向型合成

インドール 3 位に求核部位を有するアルキニルインドールを用いて、アクアミリンアルカロイドの A～D 環骨格の構築を検討した。環化前駆体 **16** の合成は以下のように行った（図 3）。グリシドール（**6**）を出発原料として合成した既知の保護トリオール **8** に対して、Swern 酸化と Ohira-Bestmann 試薬によるアルキンの構築、保護ヨードアニリン（**10**）との Sonogashira カップリング、Eschenmoser 塩を用いた増炭反応、シアノ化などを経て、求核部位としてカルボキシ基を有するアルキニルインドール **16a** を得た。その他、エステルやアミドを有する環化前駆体や、求核部位として一級水酸基を有する基質 **16b** も同様に合成した。

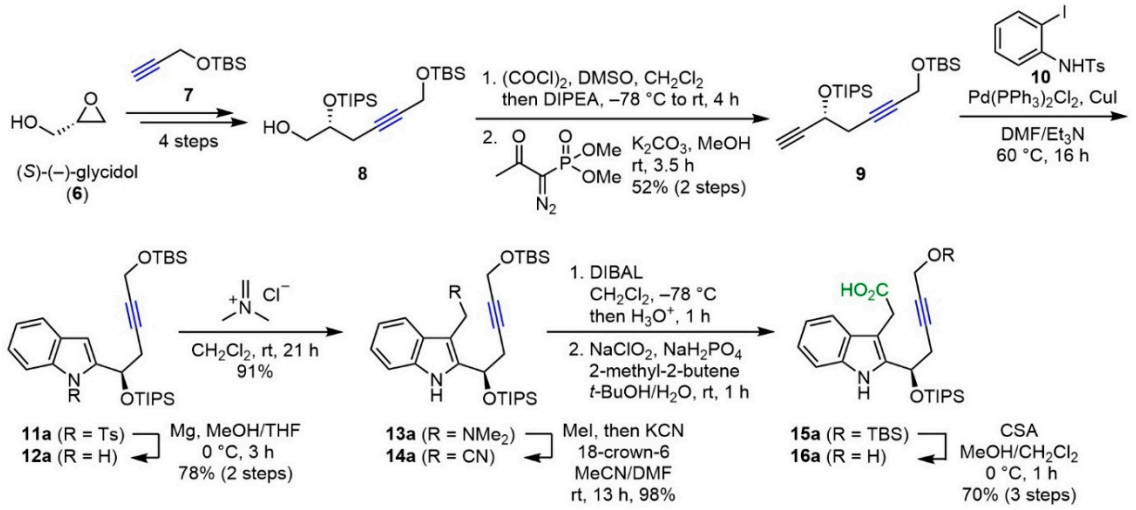


図 3. カルボン酸型環化前駆体 **16a** の合成

グリシドールを出発原料として、環化前駆体となるアルキニルインドールを合成した。

得られた環化前駆体の金触媒環化反応を検討した結果、カルボン酸を求核部位とする **16a** に対して金触媒を作用させたところ、目的の連続環化反応が進行し、四環性インドリン **17a** が 76%の収率で得られた（図 4a）[4]。興味深いことに、本反応は極めて高い立体選択性で進行し、目的の異性体のみが生成することが明らかとなった。これは、**17a** のジアステレオマー（ラクトン環が紙面手前を向いた異性体）が生じる遷移状態において、かさ高いシロキシ基とカルボキシメチル基の間に大きな立体障害が生じるためであると考えられる。引き続き、**17a** のラクトン部を利用することで、様々なアクアミリンアルカロイドに誘導しうる共通中間体 **18** に誘導した。すなわち、立体選択的なラクトンの還元的開環、アルコールのマイケル付加、クライゼン転位、および分子内アミノ化などによって、E 環部を含む **18** を得ることに成功した。一方、求核部位として一級水酸基を有する **16b** を用いると、THF 環縮環部を有する **17b** を立体選択的に与えた。本生成物に対して E 環構築法を適用することで、アスピドフィリン A（図 1）型の骨格を有する **19** を得ることに成功した。

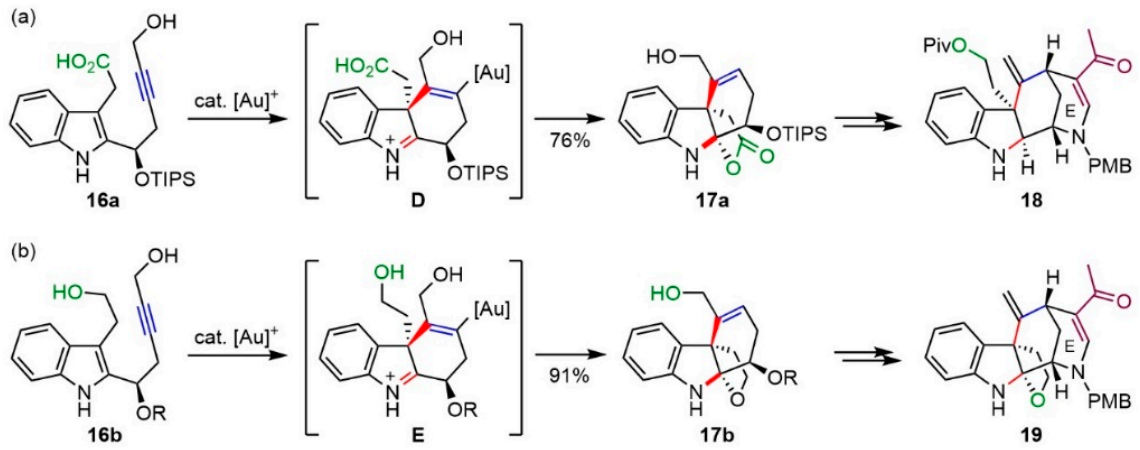


図 4. 金触媒連続環化反応による縮環インドリンの合成
アルキニルインドール **16** に対してカチオン性金触媒を作用させることで、立体選択的に縮環インドリンを与えた。
a）カルボキシ基を求核部位とするラクトン縮環型インドリン **17a** の合成と誘導化。
b）一級水酸基を求核部位とする THF 縮環型インドリン **17b** の合成と誘導化。

2. アゾシン縮環型インドール骨格の構築

アルケニル化による八員環形成反応のための環化前駆体として、エノール部位を有するエンインアジド **20** を設計した。本環化前駆体は、3-ブチン-1-オールを出発原料として、光延反応による窒素官能基の導入、アルキンに対するカルボン酸の位置選択的付加によるエノールエステル部の形成、プロパルギルアルコールとの光延反応、および Sonogashira カップリングなどによって合成した（図 5）。得られたエンインアジド **20** に対して金触媒環化反応を検討した結果、ベンゾイルエステル体（R^3 = Bz）に対してトリアルキルホスフィン系リガンドを用いて反応を行うと、64%の収率で目的のアゾシン縮環インドール **21a**（R^1 = H, R^2 = Ns）が得られた。本反応は、アジドアルキンの環化によってα-イミノ金カルベン **F** が生成し、引き続き分子内のエノール部位からの求核攻撃によって八員環形成反応が進行したものと考えられる。本反応は様々な置換基を有するエンインアジドにも適用可能であり、置換基 R^1 としてアルキン構築の足掛かりとなるシロキシアルキル基も利用可能であった。引き続き、以前我々が開発した縮環インドリン合成法 ［1］、分子内マイケル付加、ラクトン形成などによって、scholarisine 類の骨格構築と全合成を目指す。

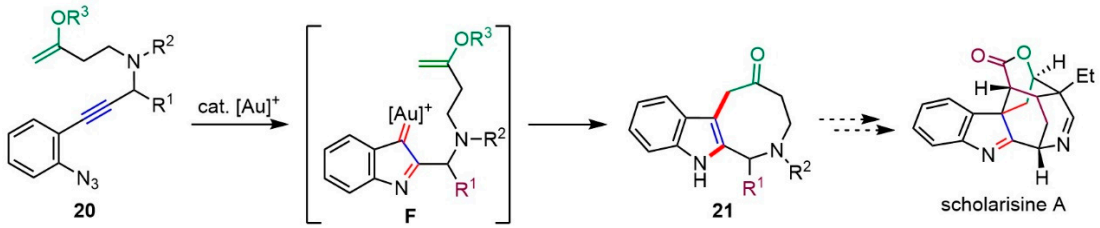


図 5. 金カルベン中間体を経由するアゾシン縮環インドール **21** の合成
金カルベンの高い求電子性により、八員環骨格構築反応が効率よく進行した。

3. 環状ペプチドとのハイブリッド化による新しい創薬モダリティの創出

ハイブリッドライブラリー構築のためのモデルケースとして、抗ウイルス活性を持つことが知られている短鎖ペプチドと低分子化合物のハイブリッド化を検討した。最初に、入手容易な天然物や医薬品に対して、アジド基を

有するリンカーを導入した。引き続き、アルキンを導入した活性ペプチドとの Huisgen 環化反応を行い、様々な低分子部分、リンカー部分、およびペプチド部分を有する数種の混合物を得た。共同研究先での活性評価の結果、この混合物の一つに高い抗ウイルス活性化合物が含まれていることが示唆された。

さらに、より広いケミカルスペースを占有するハイブリッド化合物ライブラリーの構築を目指して、アルキン部位を有する環状ペプチドの合成を実施した。現在までに、いくつかのアルキニル環状ペプチドの合成が完了している。今後は、すでに合成している低分子・リンカー混合物とのハイブリッド化によって、タンパク質表面と結合ポケットの両方を利用しうる化合物ライブラリーの取得を目指す。

以上のように我々は、金触媒連続環化反応によるアルカロイド型骨格構築法の開発と、アルカロイド誘導体の中分子化法の基礎研究を行った。本研究がさらに進展すれば、ヒット率の高い天然物型ドラッグライク化合物ライブラリーを構築するための強力な手段となりうる。さらに、最近我々が取り組んでいるビニルカチオンを経由する連続環化反応［5〜7］や、抗体を用いた抗原上反応［8］を活用することによって、新しい創薬リードの創出と構造展開の効率化に貢献できるものと考えている。

共同研究者・謝辞

本稿に述べた研究は、京都大学大学院薬学研究科創薬有機化学分野において行われたものであり、日夜実験に励んでくれた学生諸氏の努力の賜物である。また、抗ウイルス活性の評価に関する共同研究者は、京都大学医生物学研究所の橋口隆生教授および野田岳志教授である。最後に、本研究にご支援を賜りました公益財団法人上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文　献

1） Nishiyama D, Ohara A, Chiba H, Kumagai H, Oishi S, Fujii N, Ohno H. Formal Total Synthesis of (±)-Strictamine Based on a Gold-Catalyzed Cyclization. Org Lett. 2016 Apr 1;18(7):1670-3. doi: 10.1021/acs.orglett.6b00536. Epub 2016 Mar 24. PMID: 27011119.

2） Greiner LC, Arichi N, Inuki S, Ohno H. Gold(I)-Catalyzed Benzylic C(sp^3)-H Functionalizations: Divergent Synthesis of Indole[*a*]- and [*b*]-Fused Polycycles. Angew Chem Int Ed Engl. 2023 Jan 16;62(3):e202213653. doi: 10.1002/anie.202213653. Epub 2022 Dec 8. PMID: 36255174.

3） Greiner LC, Inuki S, Arichi N, Oishi S, Suzuki R, Iwai T, Sawamura M, Hashmi ASK, Ohno H. Access to Indole-Fused Benzannulated Medium-Sized Rings through a Gold(I)-Catalyzed Cascade Cyclization of Azido-Alkynes. Chemistry. 2021 Sep 9;27(51):12992-12997. doi: 10.1002/chem.202101824. Epub 2021 Jul 9. PMID: 34110644.

4） Hashimoto N, Taguchi J, Arichi N, Inuki S, Ohno H. Gold(I)-Catalyzed Cascade Cyclization of Alkynyl Indoles for the Stereoselective Construction of the Quaternary Carbon Center of Akuammiline Alkaloids. J Org Chem. 2023 Dec 15;88(24):17306-17321. doi: 10.1021/acs.joc.3c02142. Epub 2023 Dec 5. PMID: 38051730.

5） Ikeuchi T, Inuki S, Oishi S, Ohno H. Gold(I)-Catalyzed Cascade Cyclization Reactions of Allenynes for the Synthesis of Fused Cyclopropanes and Acenaphthenes. Angew Chem Int Ed Engl. 2019 Jun 3;58(23):7792-7796. doi: 10.1002/anie.201903384. Epub 2019 May 6. PMID: 30985049.

6） Komatsu H, Ikeuchi T, Tsuno H, Arichi N, Yasui K, Oishi S, Inuki S, Fukazawa A, Ohno H. Construction of Tricyclic Nitrogen Heterocycles by a Gold(I)-Catalyzed Cascade Cyclization of Allenynes and Application to Polycyclic π-Electron Systems. Angew Chem Int Ed Engl. 2021 Dec 20;60(52):27019-27025. doi: 10.1002/anie.202111267. Epub 2021 Nov 22. PMID: 34590766.

7) Tsuno H, Shen J, Komatsu H, Arichi N, Inuki S, Ohno H. Gold(I)-Catalyzed Bis-Cyclization of Allenynes for the Synthesis of Strained and Planar Polycyclic Compounds. Angew Chem Int Ed Engl. 2023 Aug 28;62(35):e202307532. doi: 10.1002/anie.202307532. Epub 2023 Jul 18. PMID: 37401836.
8) Nishiyama K, Akiba H, Nagata S, Tsumoto K, Kamada H, Ohno H. A Proximity-Induced Fluorogenic Reaction Triggered by Antibody-Antigen Interactions with Adjacent Epitopes. Angew Chem Int Ed Engl. 2023 Jul 24;62(30):e202306431. doi: 10.1002/anie.202306431. Epub 2023 Jun 16. PMID: 37259239.