

大学院薬学研究科天然活性物質学研究室

1. 研究課題名

「iNOS 阻害活性あるいはヒアルロン酸分解阻害活性を有する天然有機化合物のキラル合成」

2. 研究メンバー

松尾 圭造 近畿大学大学院薬学研究科天然活性物質学研究室・教授

西脇 敬二 近畿大学大学院薬学研究科天然活性物質学研究室・講師

金山 勝 近畿大学大学院薬学研究科天然活性物質学研究室・R A

(平成 19 年 4 月～12 月)

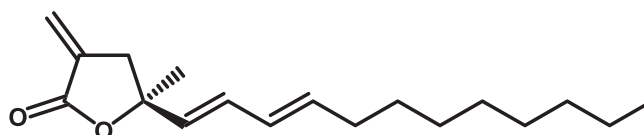
3. 研究成果

生物活性を有する天然有機化合物の多くはキラル中心を有する。生物活性の発現にはそのキラル中心の立体化学が非常に重要であり、合成的にもその立体化学の構築が最重要課題である。キラル中心の中でも四級キラル中心の構築が最も困難とされている。当研究室では、四級キラル中心を持ち、その一つの置換基が酸素官能基である生物活性天然有機化合物に的を絞り、その全合成を Seebach らにより開発された「Chiral self-reproduction Method」を適用して行うことを検討してきた。また、シクロヘキサン環上に四個のキラル中心を有する(-)-Quinic acid を有効に活用した生物活性天然有機化合物のキラル合成も合わせて検討してきた。

さらに、生物活性の期待されるトリアゼンの設計と合成を行い、細胞毒性を有する新規な化合物を見出すことができた。

3-1. iNOS 阻害活性を有する(S)-Plakolide A の合成とその絶対立体配置の修正

(S)-Plakolide A (1) は、2004 年、Gunasekera ら¹⁾ によって海綿の一種である *Plakortis sp.* から単離され、 α -exomethylene- γ -butyrolactone 骨格を有することが報告されている。また、酵素阻害物質であり、iNOS (inducible nitric oxide synthase) 阻害活性を示すことが報告されている。(S)-Plakolide A (1) は、虚血後再還流時の障害、敗血症やエンドトキシンショックサイトカイン誘導 NO 過剰産生に伴う血圧低下、関節炎を含む炎症性組織障害など NO が関係する疾患の治療薬として期待される。



(S)-Plakolide A (1)

(S)-Plakolide A (1) のキラル合成を Seebach ら²⁾ により開発された「Chiral

self-reproduction Method」を適用して行うことを検討した。

(*S*)-Lactic acid と pivalaldehyde とから合成される dioxolanone 誘導体への塩基存在下での *trans*-2-dodecenal の反応により望みの立体化学を有する enol を得た。以下、Chart1 に示す反応により当初の目的物を合成することができた。³⁾ (Chart 1)

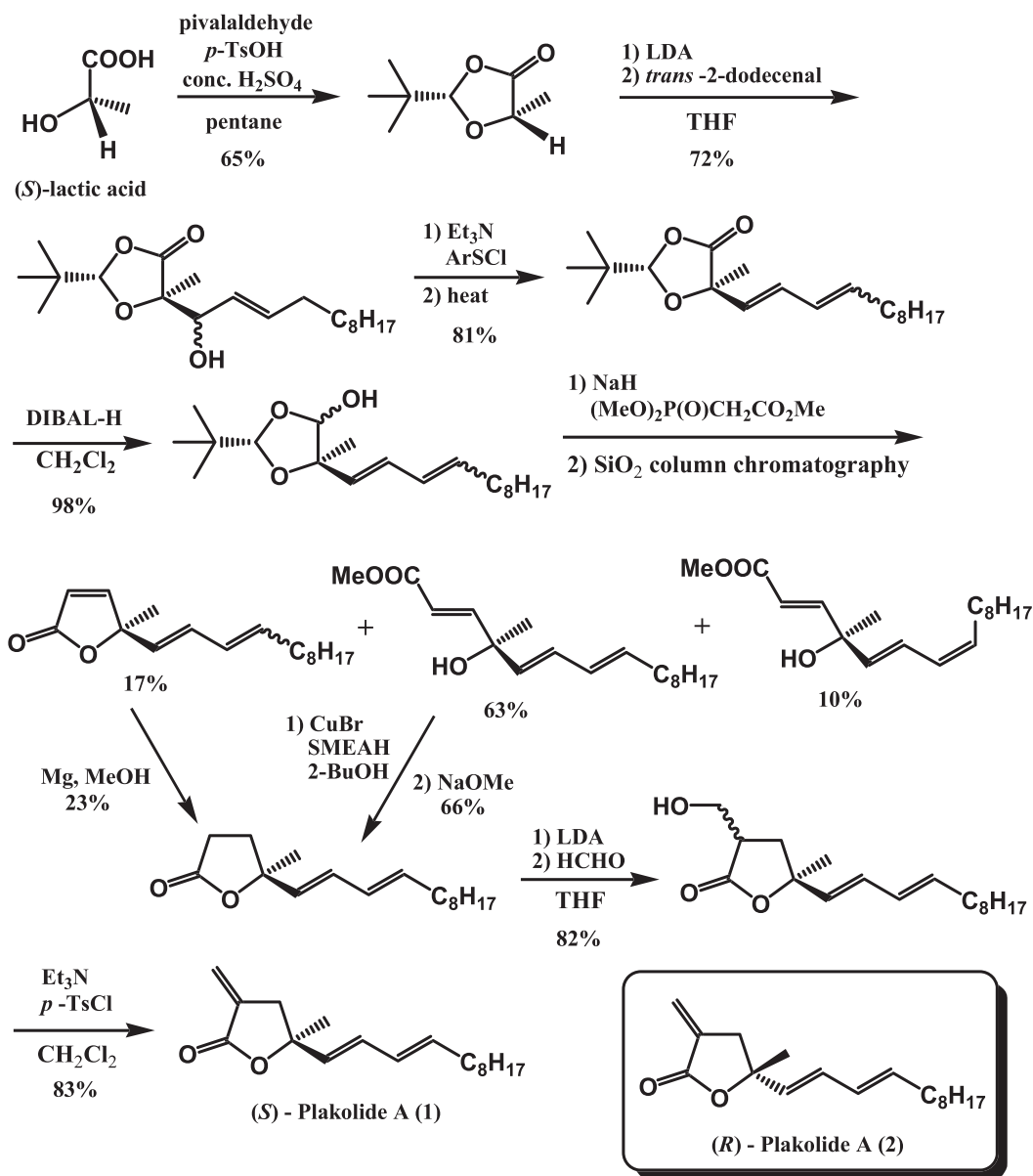


Chart 1

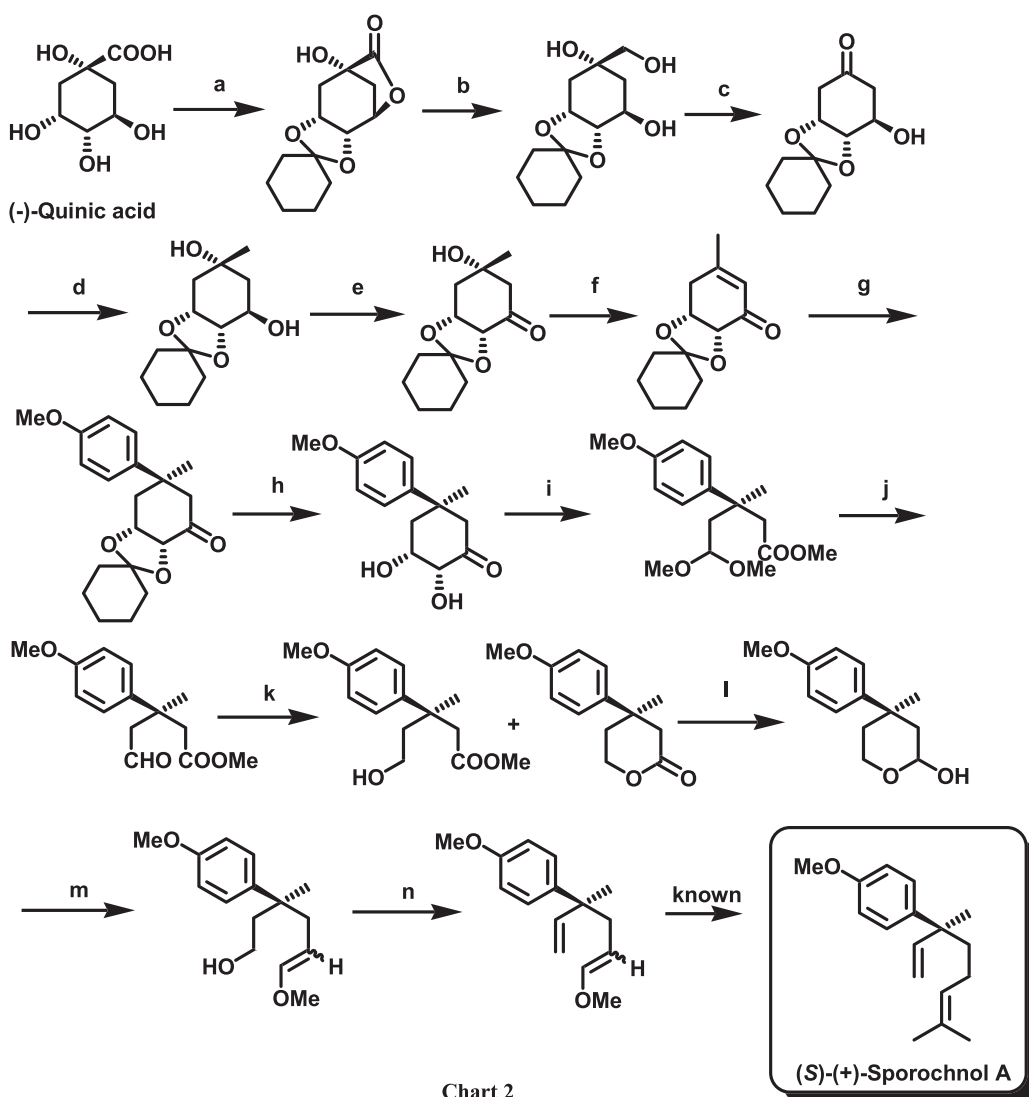
合成した(*S*)-Plakolide A (1) の IR, 1H NMR, MS スペクトルデータは天然の Plakolide A のそれらと一致していたが、比旋光度は $+45^\circ$ (c 0.12, CH_3OH) であり、天然の Plakolide A の比旋光度は -41° (c 0.1, CH_3OH) であった。さらに、合成された(*S*)-Plakolide A (1) の CD スペクトルは、228 nm に正のコットン効果と 207 nm に負のコットン効果を示し、このスペクトル曲線は天然の(-)-Plakolide A のスペクトル曲線と逆対称であった。これらのことから、天然の(-)-Plakolide A の絶対立体配置は報告された *S* 配置ではなく *R* 配

置であることが示唆される。このことを証明するために(*R*)-lactic acid を原料に用いて、上記の合成経路に従って(*R*)-Plakolide A (2) の合成を行った。(Chart 1)

合成された(*R*)-Plakolide A (2) の比旋光度は $-45^{\circ}(c\ 0.08, \text{CH}_3\text{OH})$ を示し、CD スペクトル(in CH_3OH)において、228 nm に負のコットン効果および 207 nm に正のコットン効果を示した。このことから、天然の Plakolide A は、*S* 配置ではなく *R* 配置の立体化学を持っていることが確認された。⁴⁾ 現在、構造—活性相関を検討中である。

3-2. (*S*)-(+)-Sporochinol A の合成

(*S*)-(+)-Sporochinol A は 1993 年に Shen ら⁵⁾ により藻類の *Sporochmus bolleanus* から単離、及び構造決定された化合物であり、草食魚に対して摂食阻害作用を有する。1997 年に Ogasawara ら⁶⁾ によって最初のキラル合成が報告されている。そこで、当研究室では、本化合物の合成に安価に入手可能な(-)-Quinic acid の有効利用を考えた。Chart 2 に合成スキームを示す。

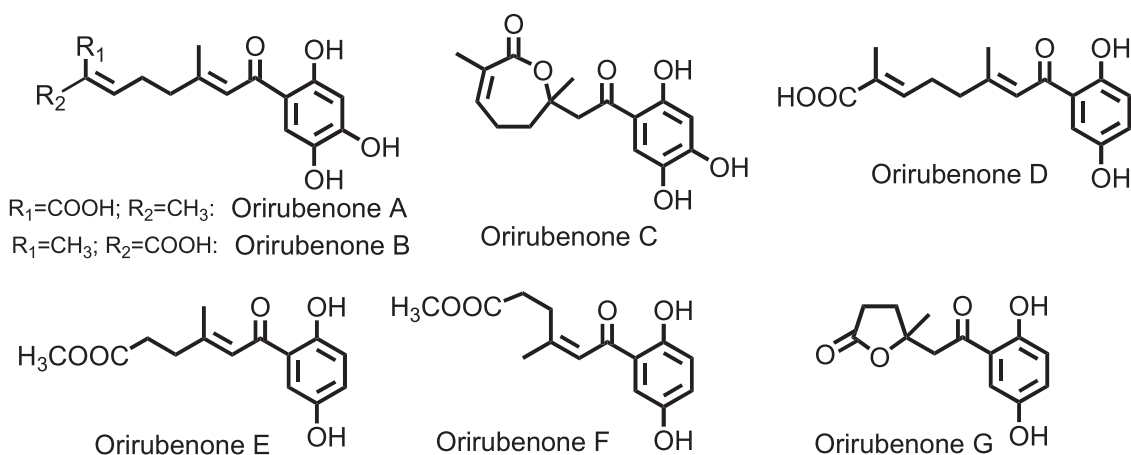


a) Cyclohexanone dimethyl acetal, *p*-TsOH, in DMF-Benzene (63%) ; b) NaBH₄, in EtOH ; c) NaIO₄, in phosphate buffer (pH 7) (67%) ; d) MeLi, in THF (88%) ; e) PDC, MS 4A, in CH₂Cl₂ ; f) POCl₃, in pyridine (29%) ; g) 4-bromoanisole, Mg, CuBr-Me₂S, Me₂S, in THF (59%) ; h) *p*-TsOH·H₂O, in MeOH / H₂O (76%) ; i) 1) NaIO₄, in MeOH·H₂O, 2) CH(OCH₃)₃, *p*-TsOH, in dist MeOH (99%) ; j) CH₃COOH / H₂O (93%) ; k) NaBH₄, in EtOH (11:6%,12:46%) ; l) DIBAL-H in CH₂Cl₂ (86%) ; m) Ph₃P⁺CH₂OCH₃Cl⁻, *n*-BuLi, in THF (55%) ; n) 1) 2-nitrophenyl selenocyanate, Bu₃P, in pyridine, 2) 30% H₂O₂, K₂CO₃ (46%)

合成された terminal olefin を有する enol ether から (*S*)-(+)-Sporochnol A への誘導は既知である。これにより, (-)-Quinic acid から (*S*)-(+)-Sporochnol A の形式全合成が完成したことになる。

3-3. Orirubenone 類の合成

川岸らによりケシヨウシメジ (*Tricholoma orirubens*)から新規物質 Orirubenone A~G が単離されており, Orirubenone A, B, C にはヒアルロニダーゼ阻害活性を有することが報告されている。⁷⁾ これらはヒアルロン酸の異常分解が伴う疾患および, ヒアルロン酸が正常時よりも亢進している歯肉炎, 荒れ肌, 乾燥肌などに対し予防・治癒効果が期待されている。そこでまず Orirubenone C および G の全合成を試みた。



Orirubenone C はキラル中心を有するがラセミ体として天然から単離された。そこでキラル合成にも適用可能なルートでのラセミ体合成を検討した。Chart 3 にその合成スキームを示した。現在 I まで合成できた。今後 I から Orirubenone C への反応を検討する。なお, 2-allyl-2-methylcyclohexanone は光学活性体が知られているので,⁸⁾ このルートはキラル合成にも適用可能である。

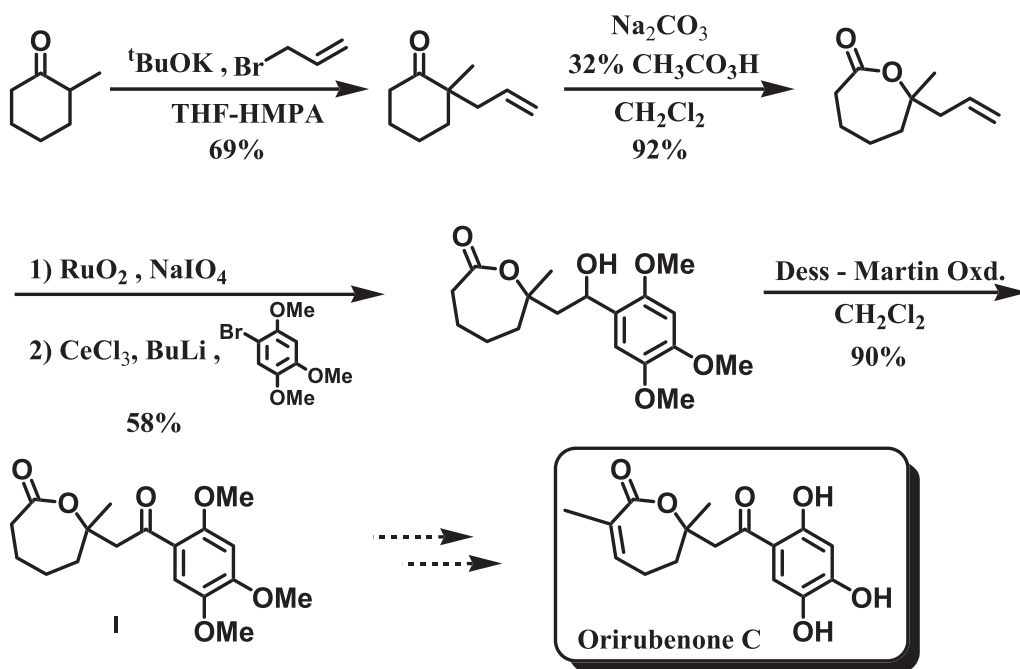


Chart 3

Orirubenone G もキラル中心を有するがラセミ体として天然から単離された. そこで, キラル合成にも適用可能なルートでのラセミ体合成を検討した. キラルな 5-allyl-5-methyltetrahydrofuran-2-one は既知である.⁹⁾ Chart 4 にその合成スキームを示した.

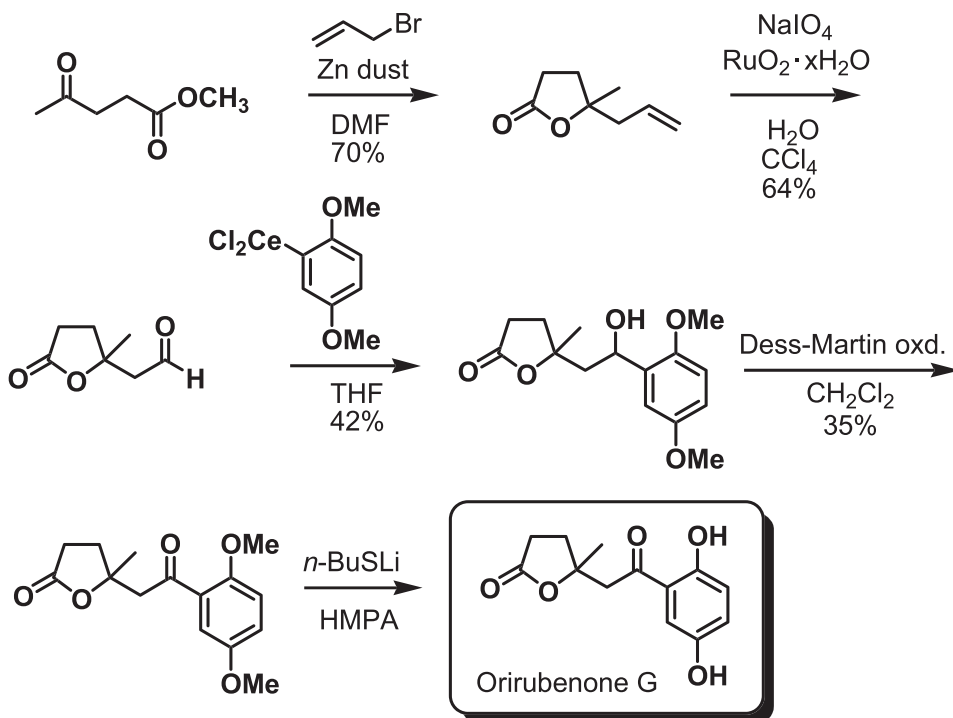
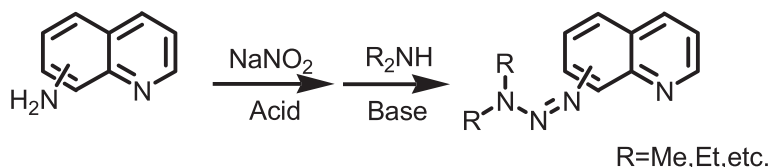


Chart 4

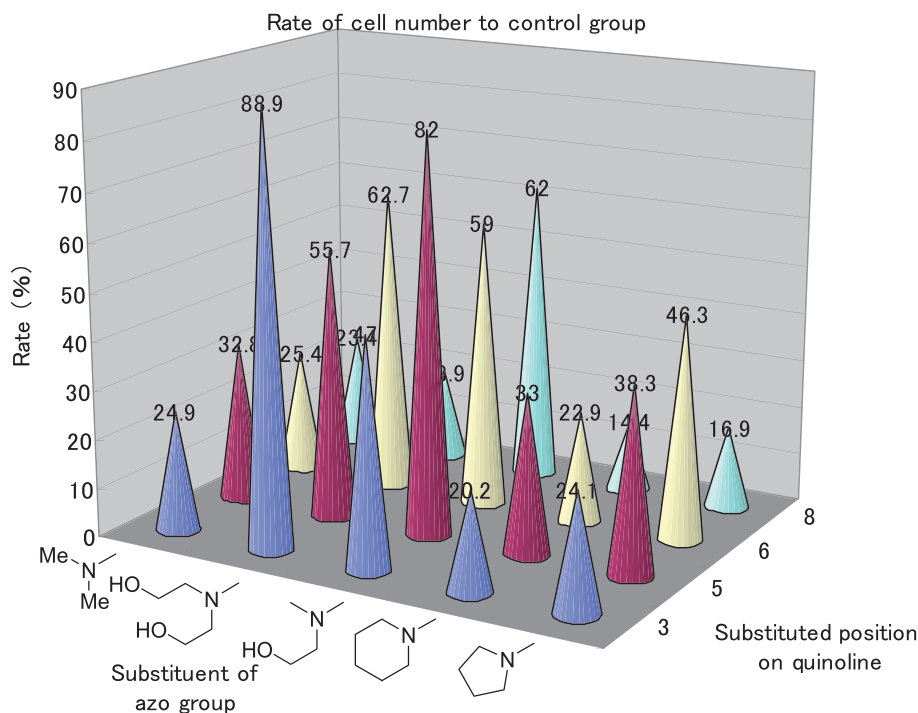
現在、合成した Orirubenone G の構造の最終確認と各ステップの収率の改善を検討しているところである。

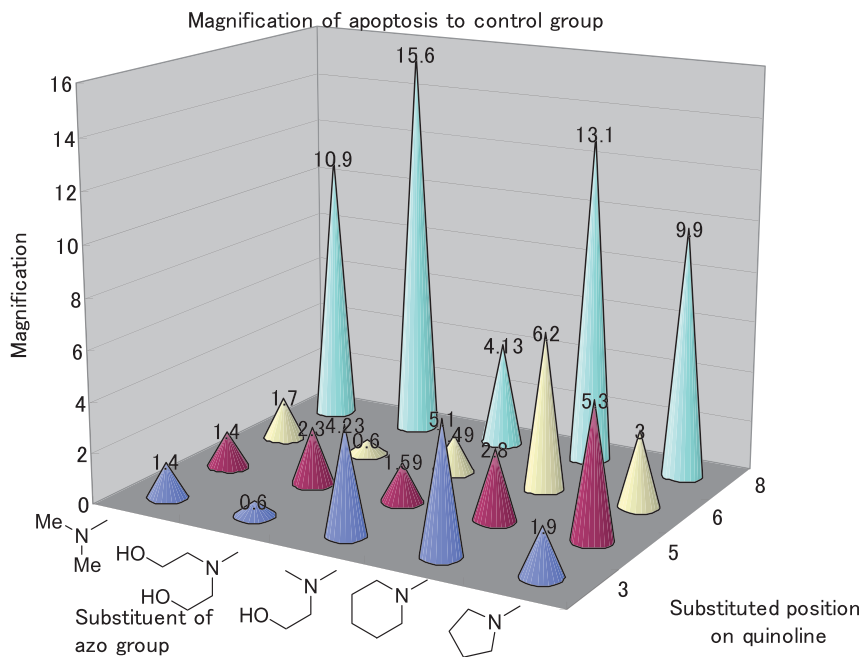
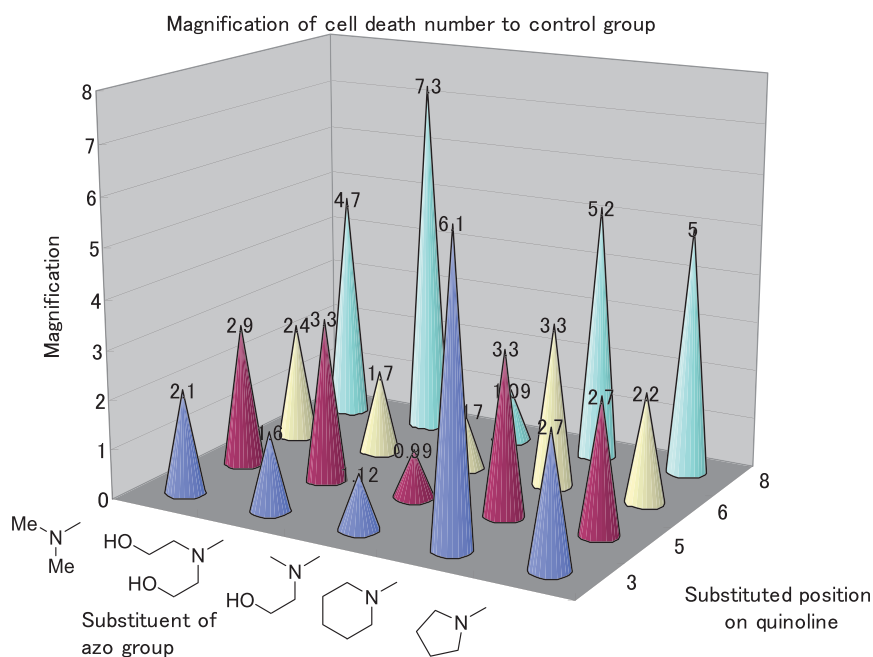
3-4. 細胞毒性を有すると期待されるトリアゼンの設計と合成

Dacarbazine に代表される 1-アリール-3,3-ジアルキルトリアゼン(以下トリアゼン)は抗腫活性を有していることが知られている。また近年、Fe(III)イオンにキレートする化合物である Desferrioxamine や PIH, Tachpyr が細胞毒性を有することが報告されている。私たちはこれまでに、トリアゼンの3位窒素上に *N,N*-ジエタノール構造を持つトリアゼンが、Fe(III)イオンと低濃度で速やかに反応することを明らかにし報告している。¹⁰そこで、Fe(III)イオンとキレートすると考えられるトリアゼンを設計・合成し、それらの細胞毒性について明らかにしようと試みた。まずキノリルアミンを原料とし、トリアゼンを合成した。



合成した化合物についてヒト大腸癌株 LS-LM4 に対する細胞毒性試験を行なった。試験項目は①コントロールに対する細胞数の割合②コントロール死細胞を1とした時の死細胞の割合③コントロールアポトーシスを1とした時の死細胞のアポトーシスの割合の3つである。





その結果、8-アミノキノリンを母核にもつトリアゼンが、総じて強い細胞毒性を持ち、特に3位の窒素上の置換基としてヒドロキシエチル基の場合が、最も強い結果となった。またその細胞死は、アポトーシスによって引き起こされるものだと推察された。Fe(III)イオンとのキレート能を検証するために、トリアゼンとFe(III)イオンとの混合物の紫外可視吸収スペクトルを測定した。その結果、活性のあった8位にトリアゼニル基をもつ化合物は、Fe(III)イオンを加えると大きく吸収波長が変化したため、その細胞毒性には

Fe(III)イオンの関与が示唆された。

引用文献

- 1) Gunasekera S. P., Isbrucker R. A., Longley R. E., Wright A. E., Pomponi S. A., Reed J. K.: *J. Nat. Prod.*, **67**, 110-111 (2004).
- 2) Seebach D., Naef R., Calderari G.: *Tetrahedron*, **40**, 1313-1324 (1984).
- 3) Kanayama M., Nishiwaki K., Matsuo K.: *Heterocycles*, **68**, 233-236 (2006).
- 4) Matsuo K., Kanayama M., Nishiwaki K.: *Heterocycles*, **68**, 1401-1407 (2006).
- 5) Shen Y. C., Tsai P. I., Fenical W., Hay M. E.: *Phytochemistry*, **32**, 71-75 (1993).
- 6) Takahashi M., Shioura Y., Murakami T., Ogasawara K.: *Tetrahedron Asymmetry*, **8**, 1235-1242 (1997).
- 7) Sakai S., Tomomura Y., Yoshida H., Inoue S., Kawagishi H.: *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **69**, 1630-1632 (2005).
- 8) Behenna D., Stoltz B.: *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15044-15045 (2004).
- 9) a) Matsuo K., Arase T.: *Chem. Pharm. Bull.*, **43**, 890-892 (1995). b) Matsuo K., Arase T., Ishida S., Sakaguchi Y.: *Heterocycles*, **43**, 1287-1300 (1996). c) Matsuo K., Sakaguchi Y.: *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 1620-1625 (1997).
- 10) Nishiwaki K., Taga A., Yamaya M., Morita Y., Suzuki Y., Honda S., Matsuo K.: *Chem. Lett.*, **35**, 1418-1419 (2006).