

講演番号 天然物をモチーフとする神経生理活性化合物の
(記入不要) 創製の試み

(横浜市大院生命ナノ)

板垣ひより、諸熊賢治、石川裕一、○及川雅人

シナプスにおける神経伝達は、グルタミン酸をはじめとする神経伝達物質とその受容体との相互作用によりおこなわれ、私たちの高度な脳機能を支えている。こうした受容体には様々な種類があってそれぞれが興奮性あるいは抑制性の神経伝達を担っており、それらの全容の解明に向けて受容体の生物機能の解析が特異的なりガンドを用いて進められてきた。このようなりガンドと受容体との構造活性相関を理解することは、中枢神経系の複雑な機能の解明のみならず神経性疾患に対する治療薬の創製につながると期待されている。

我々は 2008 年、海洋天然物である dysiherbaine (DH) と kainic acid (KA) の構造をモチーフとした人工グルタミン酸関連化合物群を合成し、その全てがマウス脳室内投与において神経活性を有していることを見いだした。興味深いことに、それらの中には、DH/KA

とは異なって、抑制性を示す化合物が複数あった。大まかには C 環のサイズと、それに含まれるヘテロ原子によって活性が変化を受けることを示唆するデータであった。

その後の構造活性相関の研究によって、A 環にカルボニル基を持つ化合物においても同様な神経活性が見いだされることが判明したため、その構造を軸とした合成化学的展開を進めることにした。そして C 環が不飽和六員環アミンの IKM-159 (13)¹ の機能を詳細に調べ、それが AMPA 受容体を弱いながらもサブタイプ選択的に阻害すること、

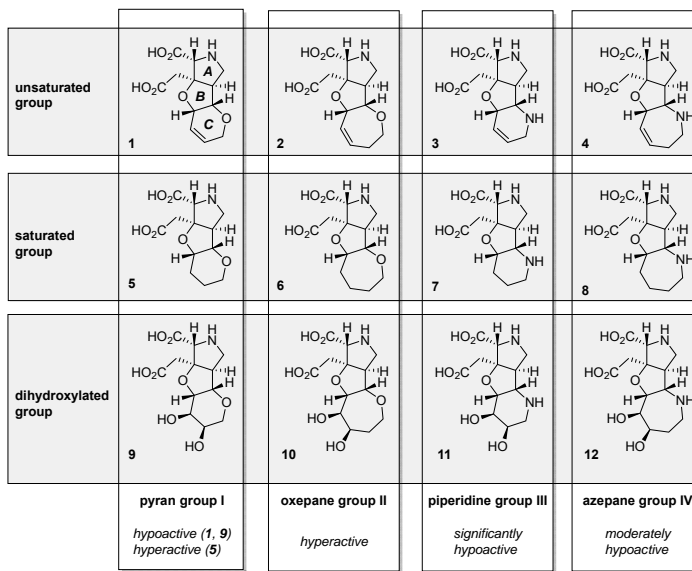


Fig. 1

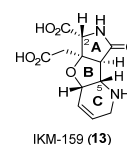


Fig. 2

活性を担うのは DH/KA とは異なり 2R 体であること、AMPA 受容体のリガンド結合ドメインに結合するが、その向きが DH/KA とは異なることなどを明らかにした。その結果を踏まえ、本研究では C 環部類縁体の多様合成を行い、活性評価を通して、この人工グルタミン酸関連化合物が興奮性/抑制性の神経活性を反転させる構造要因について考察したので報告する。また、DH/KA と同様にグルタミン酸構造を有するものの、神経活性が極めて微弱な lycoperdic acid をモチーフとした合成化学的展開を検討したので併せて報告する。

共通中間体を經由する C5-oxy 類縁体の合成と神経活性 (抑制性 MC-27 の発見)²

まず、C 環部の必要性と、それに含まれるヘテロ原子が活性に与える影響を調べるため、C5-oxy 類縁体 **14–17** の合成を行うことにした。それらの合成は、既存の方法に則って行うものとし、共通の中間体を経ることで効率的に行った。すなわち、oxanorbornene **18** (合成法は後述) に対して *p*-methoxybenzyloxy 基を立体保持で導入したのちに酢酸ビニルを共存させたドミノメタセシス反応 (RCM/CM) によって環構造の変換を行い、つづく官能基変換によって **19** を得た。PMB 基をアリル基に換え、閉環メタセシス (ROM) による六員環エーテル形成とその後の官能基変換によって類縁体 **14** は得られた。

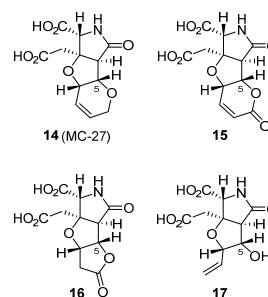
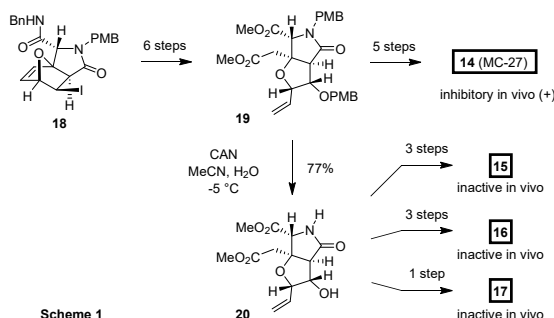


Fig. 3

その他の類縁体は、**19** の PMB 基ふたつを CAN によって除去した **20** を共通中間体として合成した。ラクトン類縁体 **15** は、**20** をアクリロイル化したのちに ROM を行い、脱保護を行って合成した。五員環ラクトン類縁体 **16** は、**20** に対して anti-Wacker 酸化を行い、PCC 酸化と酸加水分解によって得ることができた。C 環を有さない二環性類縁体 **17** は **20** を酸加水分解して得た。類縁体 **14–17** の *in vivo* 活性は、**14** (MC-27) が予想通りに **1** (Fig. 1) と同様に軽い抑制性であったのに対し、**15–17** は全くの不活性であった。これは、C 環の構造が神経活性に必要であること、また **15**, **16** の場合には 9 位カルボニル基が何らかの悪影響を与えていることを示していると思われた。



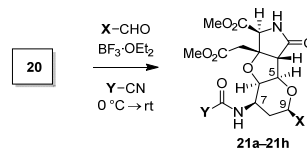
Scheme 1

9 位に置換基を有する C 環部六員環エーテル類縁体群の合成と神経活性³

C 環の構造を六員環エーテルに固定し、その 9 位に置換基を有する類縁体の神経活性を次に調べることにした。エーテル環を形成すると同時に置換基の導入を行う

ことができれば効率的であろうと考えて検討を行ったところ、ホモアリルアルコール中間体 **20** とニトリル化合物およびアルデヒド化合物を三成分縮合させる Prins-Ritter 反応が極めて有用であることを見いだした。この反応は $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ を触媒として 0°C から室温で行うもので、高立体選択的に 7,9 位に置換基を有するエーテル環を構築することができた。これは六員環エーテル上の 4 つの置換基すべてが *cis* に配置されたもので、Prins 反応においては報告例があるものの、Prins-Ritter 反応においては初めての発見であった。その立体選択性発現のメカニズムについては、過去に Alder が報告したモデルで合理的に説明できると考えている。

Table 1



Run	X	Y ^a	$\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$	Time	Product	Yield (BRSM)
1	Ph	Me	4.7 equiv	5 h	21a	83%
2	vinyl	Me	1.3 equiv	5 h	21b	42%
3	styryl	Me	1.0 equiv	10 h	21c	48%
4	styryl	Ph	1.6 equiv	10 h	21d	39% (73%)
5	Ph	Ph	1.7 equiv	5 h	21e	91%
6	Ph	vinyl	20 equiv	20 h	21f	97%
7	Ph	chloromethyl	2.5 equiv	5 h	21g	85%
8	Ph	bromomethyl	6.2 equiv	5 h	21h	77%

この三成分縮合反応によって、3 種類のアルデヒドと 5 種類のニトリルから 8 種類の生成物 **21a-21h** を得ることができたので、メチルエステルの加水分解を行って、8 種類の C 環部六員環エーテル類縁体を合成した。また、benzaldehyde を用いる Prins-Ritter 反応の際に副生した C7-hydroxy 化合物からも加水分解によって **7** を得た。これらをマウス脳室内投与により評価したところ、いずれも **14** (MC-27) の抑制活性を完全に失っていることが判明した。我々は過去に IKM-159 の C7,8-dihydroxy 類縁体が IKM-159 と同程度の神経活性を有することを見いだしていることから、この結果は、7 位置換基ではなく 9 位置換基が原因であると考えられた。

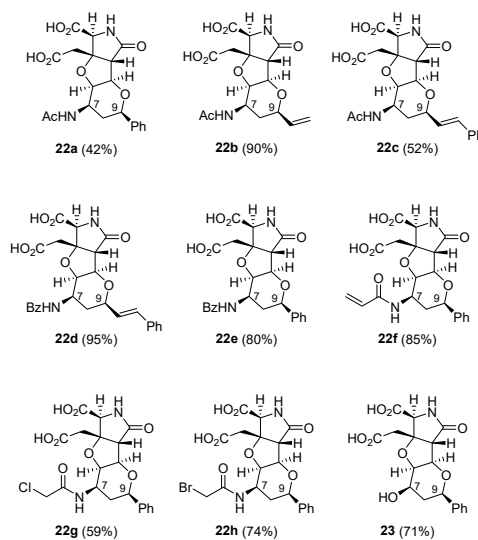


Fig. 4

興奮性 C 環部七員環エーテル類縁体 (IKM-154, **24**) の不斉合成と神経活性

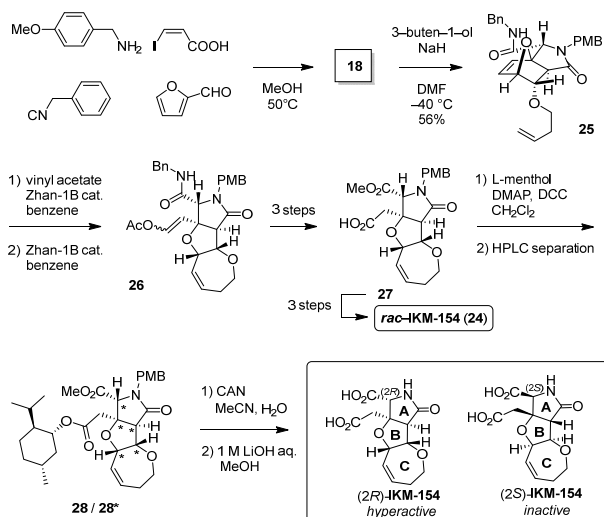
IKM-154 (**24**) は、C 環部が七員環エーテルの類縁体である¹。IKM-159 (**13**, 六員環アミン) や MC-27 (**14**, 六員環エーテル) が抑制性であるのに対し、先行研究に

における生物活性評価では興奮性であることが示唆されていた⁴。今回、その再評価を行うことを目的にラセミ体での大量合成経路を確立するための合成研究を行った。さらに、構造活性相関研究のため、IKM-154 (**24**) の不斉合成研究に取り組んだ。

Scheme 2 に示すように、タンデム型四成分縮合反応により一段階でノルボルネン骨格 **18** を構築し、続く 3-buten-1-ol の共役付加反応で butenyl ether **25** をグラムスケールで合成した。

この **25** に対し、酢酸ビニル存在下で Zhan-1B 触媒を作用させてドミノメタセシス反応を行い、C 環部に 7 員環を持つ三環性骨格 **26** を得た。さらに 3 段階でモノカルボン酸 **27** へ導いた後、メチルエステル化、保護基の除去を順次行い、ラセミ体 IKM-154 (**24**) を 200 mg 合成した。マウス脳室内投与の結果、IKM-154 (**24**) は確かに興奮性であることが示された。

次に、いずれのエナンチオマーが活性を有しているのかを明らかにすべく IKM-154 (**24**) の不斉合成を行った。ラセミ体合成中間体であるモノカルボン酸 **27** に対し、L-menthol をキラル試薬として用いてエステル化した。得られたジアステレオマー **28** / **28*** は HPLC による分離が極めて容易であった。さらに、分離されたジアステレオマーの立体化学は NOESY による解析と、分子力場計算によって算出された安定配座の解析の比較によって決定することができた。それぞれのジアステレオマーの保護基を除去し、(2*R*)-IKM-154、(2*S*)-IKM-154 を得ることができた。マウスを用いた生理活性評価の結果、2*R* 体のみが活性を発現することを見いだした。抑制性 IKM-159 (**13**) も 2*R* 体はその活性を担っていることから、IKM-154 (**24**) も AMPA 受容体に作用していることが示唆された。そこで、AMPA 受容体との複合体における IKM-159 (**13**) の結晶構造と、IKM-154 (**24**) の安定配座 (MM2) を比較したところ、2 つのカルボキシ基の配座が大きく異なっていることが見いだされた。C 環の構造によってカルボキシ基の配座が影響を受け、それが複合体形成したときに AMPA 受容体に引き起こす配座変化が、その興奮性/抑制性の神経活性を反転させている可能性が考えられ、今後は構造生物学



Scheme 2

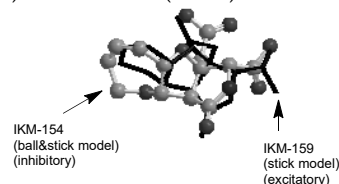
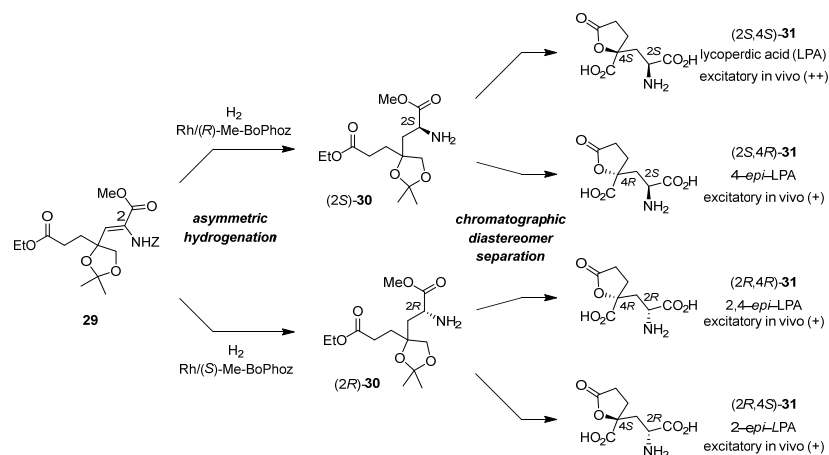


Fig. 5

的な解析を進めてゆきたいと考えている。

Lycoperdic acid の多様合成と神経活性

本研究では、キノコ由来のグルタミン酸類縁体 lycoperdic acid (LPA, **31**) をモチーフとした合成研究も進めている。LPA は DH からテトラヒドロピラン環を除去した構造を有しており、置換基や骨格の多様性を付与することによりサブタイプレベルでの選択性を獲得する可能性を秘めている。今回、市販の 2,2-dimethyl-1,3-dioxan-5-one から 5 段階で合成したラセミ体の enamide **29** に対し、不斉接触水素化を行って (2*S*)-**12** / (2*R*)-**12** を導き、ジアステレオマー分離とそれに引き続く官能基変換によって LPA の立体異性体 4 種の合成を行った。マウス脳室内投与による評価では、天然型 (2*S*,4*S*) 体が軽い興奮性を示したのに対し、非天然型類縁体 3 種はいずれも比較的弱い興奮活性を示すにとどまった。これらを出発点とする構造多様性導入の検討を進めている。



Scheme 3

謝辞：マウス脳室内投与による in vivo 活性評価は酒井隆一教授（北海道大学）により実施されました。

参考文献

- 1) M. B. Gill, S. Fraust, M. Ikoma, M. Sasaki, M. Oikawa, R. Sakai, G. T. Swanson, *Br. J. Pharmacol.* **2010**, *160*, 1417–1429.
- 2) M. Chiba, C. Fujimoto, R. Sakai, M. Oikawa, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 1869–1871.
- 3) M. Chiba, Y. Ishikawa, R. Sakai, M. Oikawa, *ACS Comb. Sci.*, **2016**, *18*, 399–404.
- 4) M. Oikawa, M. Ikoma, M. Sasaki, M. B. Gill, G. T. Swanson, K. Shimamoto, R. Sakai, *Bioorg. Med. Chem.* **2010**, *18*, 3795–3804.

Natural Product-inspired Synthetic Studies Directed toward Development of Neuroactive Agents

Hiyori Itagaki, Kenji Morokuma, Yuichi Ishikawa, Masato Oikawa
(Graduate School of Nanobioscience, Yokohama City University)

Ionotropic glutamate receptors (iGluRs) play an important role in higher brain functions such as learning and memory, by mediating the majority of fast excitatory neurotransmission in the mammalian central nervous system (CNS). iGluRs are also thought to be fully or partly involved in nociception and closely related to several brain diseases. Development of selective ligands for iGluRs is thus of importance for understanding higher brain functions and treatment of neuronal diseases. IKM-159, an artificial glutamate analog designed from marine-derived natural products, was developed as a selective inhibitor for AMPA-type iGluR in the CNS. *in vivo*, IKM-159 also inhibits mice voluntary action upon intracranial injection. For better understanding of structure-activity relationships, we have studied diverted synthesis of four C-ring analogs via an advanced intermediate. The *in vivo* biological studies have allowed us to develop weakly hypoactive MC-27, and have also showed the importance of the C-ring for the neuroactivity of IKM-159.

We next studied diverted synthesis of C-ring analogs bearing substituents at the C7 and C9 positions. We found the homoallylic alcohol intermediate shown above efficiently gives such compound collections by Prins-Ritter reaction, which is the three-component coupling reaction for construction of the tetrahydropyran skeleton in one step from aldehyde, homoallylic alcohol, and nitrile mediated by Brønsted acid or Lewis acid. The Prins-Ritter products were then subjected to hydrolysis to give rise to nine C-ring analogs, which unfortunately were found to be neuronally inactive *in vivo*. The substituent at C9 is now supposed to be responsible to the loss of the activity.

IKM-154, bearing seven-membered ether ring as the C-ring, had been preliminarily suggested to be excitatory, in marked contrast to the fact that the closely related analogs, IKM-159 and MC-27, are inhibitory *in vivo*. Here, we established the asymmetric synthetic route of IKM-154 used for detailed studies on the pharmacology and the structural biology. Mice *in vivo* assays have shown that (2*R*)-IKM-154 is responsible to the hyperactivity. Since hypoactive enantiomer is also 2*R* in the case of IKM-159, IKM-154 is supposed to share the same binding site of AMPA-type iGluR. The key molecular interactions of IKM-154 with the iGluR are proposed.

Many of the naturally occurring iGluR ligands typically contain Glu motif fused to five-membered heterocycle such as tetrahydrofuran and pyrrolidine. Here, we also planned to synthesize artificial Glu analogs inspired by mushroom-derived lycoperdic acid (LPA) bearing Glu motif on the γ -butyrolactone core which, however, has been reported to show only weak affinity to iGluRs. We expected the analogs would allow us to develop a novel ligand for iGluR, and the efficient stereodivergent syntheses have been developed. The diastereomers of LPA were found to show less potent hyperactivity as compared to natural LPA.