

中枢神経系の受容体に特異的に作用する海洋天然物および類縁体の合成研究

Synthetic studies on marine natural products and analogues that specifically bind to neuronal receptors

代表研究者

横浜市立大学 及川雅人 Yokohama City University Masato OIKAWA

協同研究者

北海道大学 酒井隆一 Hokkaido University Ryuichi SAKAI

(財) サントリー生物有機科学研究所 島本啓子

Suntory Institute for Bioorganic Research Keiko SHIMAMOTO

ノースウエスタン大学 スワンソン Northwestern University Geoffrey T. SWANSON

Ligands for neuronal receptors are important for understanding and controlling higher brain functions such as learning and memory, and a number of neuronal disorders. Here, we report syntheses of marine natural product dysibetaine CPa (DBCPa) and the analogs, that structurally include γ -aminobutyric acid (GABA), in the racemic form.

Starting from cyclopropanation of *N*-arylmaleimide using sulfonium ylide, the synthesis of DBCPa was finally achieved in 3.2% overall yield over 14 total steps. The key transformations were, 1) the cyclopropanation, 2) reductive opening of cyclic imide, 3) *N*-Boc imide formation, and 4) ethanolysis of the *N*-Boc imide toward ethyl ester, that were sequentially performed by virtue of electron-withdrawing *p*-nitrophenyl group.

The developed synthesis route was shown to be amenable to the synthesis of five analogs, efficiently (3.5-7.8% yield for 12-14 steps).

Biological evaluations were performed *in vivo* (intracranial injection in mice) and *in vitro* (current- and voltage-clamp electrophysiological analyses from cultured hippocampal neurons). In these assay systems, none of the artificial analogs showed potent activities, indicating that both 1) identical stereochemistries to those of natural DBCPa, and 2) the presence of quarternary ammonium cation, are important for the biological activities of DBCPa.

研究目的

記憶や学習に関わる神経科学は、現在最も発展が期待される研究分野のひとつである。神経伝達は中枢神経系の受容体を介するが、それらは構造・機能共にきわめて多様であり、その理解のためには特異的かつ選択的に結合するリガンドの開発が必要である。

ミクロネシア産海綿 *L. chondrodes* はユニークな二次代謝産物を生産することで知られており、そのうち dysiherbaine (1) および neodysiherbaine (2) は GluR5 および GluR6 に選択的に強く結合する作動薬である (Figure 1)。また、dysibetaine CPa (3) および CPb (4) は配座固定されたγ-アミノ酪酸 (GABA) 構造を有するが、GluR に対して微弱の親和性を示すこと以外、その生理作用は解明されていない。この海綿は他にも dysibetaine (5) など分子標的が明らかとなっていない天然物を生産する。申請者は、これら「活性不明化合物」に神経伝達で主要な役割をになう Glu や GABA の構造モチーフが存在することに着目し、有機合成により天然物の潜在的な力を引き出そうと考え、本研究を立案した。

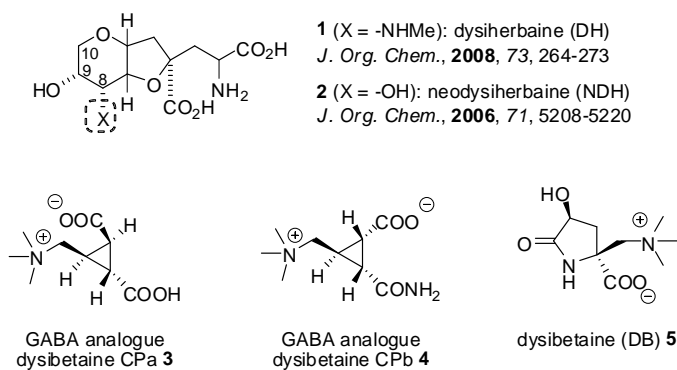


Figure 1.

よび CPb (4) は配座固定されたγ-アミノ酪酸 (GABA) 構造を有するが、GluR に対して微弱の親和性を示すこと以外、その生理作用は解明されていない。この海綿は他にも dysibetaine (5) など分子標的が明らかとなっていない天然物を生産する。申請者は、これら「活性不明化合物」に神経伝達で主要な役割をになう Glu や GABA の構造モチーフが存在することに着目し、有機合成により天然物の潜在的な力を引き出そうと考え、本研究を立案した。

申請者はこれまでに 1 および 2 の合成研究を行い、活性評価を担当する研究者と共同で、活性発現に必要な構造単位を明らかにしてきた (*JOC*, **2006**, 5208 および *JOC*, **2008**, 264)。さらに 2 の構造にヒントを得て構築した人工グルタミン酸ライブラリーの中に天然物にはない抑制型の作用を有する化合物を見出すことにも成功している (*EJOC*, **2008**, 5215)。

本研究では、この海綿が生産する他の天然物 (DB 類) 合成化学的研究に取り組む。具体的には、3 および 4 に対し、類縁体合成も視野に入れた不斉合成法を確立し、共同研究者が実施する活性評価の結果を合わせて構造活性相関の解析を進め、GluR や GABA 受容体に対する親和性の増強を図る。これは未開拓天然物資源の有効活用法につながるものである。

研究経過

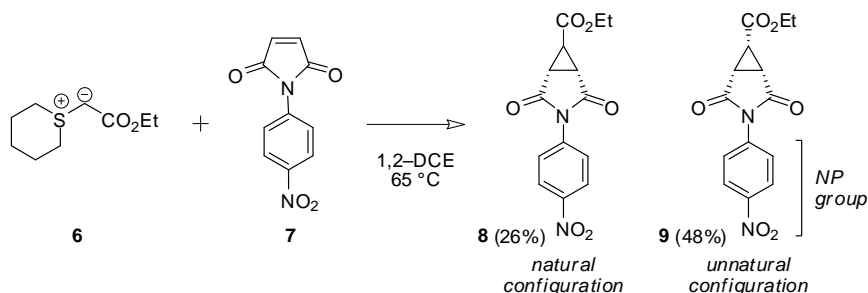
研究の方針としては以下のような直近の目標に順次到達しつつ上述の最終目標をめざすことを考えた。まず、dysibetaine CPa (3) および CPb (4) はいずれも絶対立体配置が確定されていないという問題を持っている。そこで本研究ではこれらの不斉合成法を確立し、絶対立体配置を明らかにすることを直近目標のひとつに設定した。また、別の目標として、構造を改変させた類縁体を多数合成することを掲げた。さらに、合成された化合物につい

では活性評価を *in vivo* および *in vitro* で行い、活性が見いだされた化合物については構造活性相関の解析を進め、中枢神経系受容体に高い特異性を持つ化合物の開発へと展開することを目標とした。

Dysibetaine CPa (**3**) および CPb (**4**) はその構造が示すようにシクロプロパン上の炭素すべてが一置換であるという特徴を有しており、その構築に際しては分子対称性を不斉反応で崩す合成戦略が有効であると考えられた。本研究では、不斉合成法を確立するに先だって、まず **3** のラセミ合成のための経路を開発することとした。この合成経路は将来的に不斉合成への展開が可能なものと期待される。

Dysibetaine

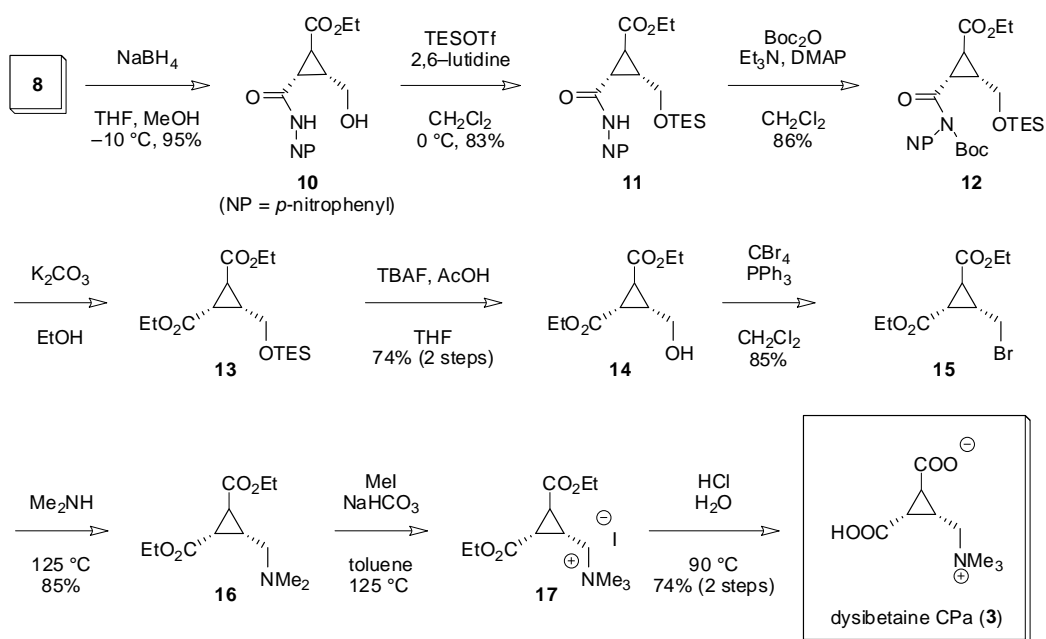
CPa (**3**) の全合成法を検討するにあたり、まずは特徴的なシクロプロパン化合物を合成した (Scheme 1)。こ



Scheme 1.

の反応においては天然型 **8**、およびすべての置換基がシスに配置されたジアステレオマーである非天然型 **9** の 2 種類のシクロプロパン化合物が得られ、これらは以下のように数段階の反応を経て **3** およびその立体異性体やアミノ基に関する類縁体 (**18–22**) へと導いた。

Dysibetaine CPa (**3**) のラセミ体全合成を Scheme 2 に示す。イミド **8** を還元してアルコール **10** を得たのちに、シリル基で保護し、さらにアミドを Boc 化した。得られた **12** をエタノリシスして **13** とし、脱シリル化とブロモ化により **15** を得た。ハロゲン化については、より反応性の高いヨウ素化を初めに試みたが、これは不安定であり精製中に分解してしまった。これに対して臭化物 **15** は化学的に安定であり取り扱いが容易であったものの、アミンに対する反応性が低く、トリメチルアミンによる置換反応は全く進行しなかった。そこで二段階反応を検討したところ望むアンモニウム塩 **17** を合成することができた。具体的には、臭化物 **15** に対してジメチルアミンを封管中 125 °C で作用させ、三級アミン **16** を 85% の好収率で得た。その三級アミンにヨウ化メチルを 125 °C で反応させたところアンモニウム塩 **17** をきれいに合成することができた。これを精製することなく 90 °C で塩酸処理するとエステルの加水分解が円滑に進行し、dysibetaine CPa (**3**) が 74% の好収率で得られた。全合成に要した段階数は全 14 段階、総収率は 3.2% であった。



Scheme 2.

本研究で開発した dysibetaine CPa (**3**) のラセミ全合成法は類縁体の合成にも有用で、アミノ基に関する異性体 **18**, **19** を 3.8% および 3.5% の収率で、さらに加えて立体異性体 **20**, **21**, **22** を 5.8%, 7.8%, 4.0% の収率で、それぞれ与えた (Figure 2)。

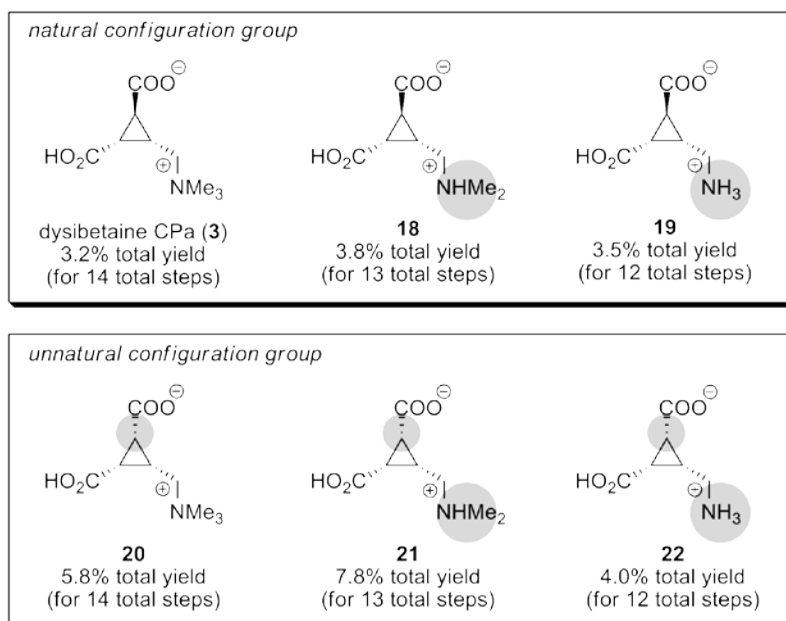


Figure 2.

考察

Scheme 2 に示した dysibetaine CPa (**3**) のラセミ全合成法は、最終的に **3** だけでなく 5 種類縁体 (**18-22**) の合成にも適用できた。この合成経路を可能にしたのは、*p*-nitrophenyl 基であった。これはシクロプロパン化におけるマレイミド **7** の反応性を高め、イミド **8** の還元を円滑に進行させ、さらに **11** の Boc イミド化とエタノリシスによるエチルエステル **13** の合成を好収率で実現させる。この一連の官能基変換は **3** だけでなく dysibetaine CPb (**4**) およびその類縁体の合成にも適用が可能であろうと考え検討を進めている。すでに述べたが、この合成法は光学活性体の合成も実現できるよう設計したもので、それをめざした研究も進めているところである。

合成品 (**3**, **18-22**) は、共同研究者である酒井隆一博士（北海道大学）がマウスを用いた *in vivo* で活性評価を行ったが、マウスの自発的行動に変調は認められなかった。合成品が抑制活性を示す場合、*in vivo* での活性評価は難しいと考えられたため、さらに *in vitro* での活性評価も行ったが、ラット海馬培養神経細胞の自発発火に影響を与えるものは天然物 **3** のみであるという結果が得られた。したがって、dysibetaine CPa (**3**) が GluR に対して示す微弱な親和性の発現に際しては、その立体化学や四級アンモニウムカチオンの存在が重要であることが明らかになった。

研究発表

口頭発表

1. 佐々木翔太；「GABA 構造を含む海洋天然物 dysibetaine CPab の合成研究」、横浜国立大学-横浜市立大学 第 5 回ナノテク交流シンポジウム（横浜、2010 年 3 月 6 日）
2. 佐々木翔太；「GABA 構造を含む海洋天然物 dysibetaine CPab の合成研究」、横浜国立大学-横浜市立大学 第 5 回ナノテク交流シンポジウム（横浜、2010 年 3 月 6 日）
3. 佐々木翔太、境倫宏、酒井隆一、及川雅人；「Dysibetaine CPa の全合成」、日本化学会第 91 春季年会（横浜、2011 年 3 月 28 日）

誌上発表

1. Masato Oikawa, Minoru Ikoma, Makoto Sasaki, Martin B. Gill, Geoffrey T. Swanson, Keiko Shimamoto, Ryuichi Sakai; "Improved synthesis and *in vitro*/*in vivo* activities of natural product-inspired, artificial glutamate analogs" *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 2010, 18, 3795-3804. (関連する研究として)
2. 及川雅人；「生命科学研究指向型の有機合成化学」、横浜市立大学論叢（自然科学系列），2010, 60, 33-45.

3. 境倫宏 佐々木翔太 及川雅人 ; 「中枢神経系 GABA 受容体の機能を調節する有機化合物」、横浜市立大学論叢 (自然科学系列) , 2011, 61, 75-89.