



|              |                                                                             |
|--------------|-----------------------------------------------------------------------------|
| Title        | HIV潜伏感染再活性化能を有するansellone類及びその誘導体の合成・活性評価と構造単純化による構造活性相関研究                  |
| Author(s)    | 柳原, 瑞士                                                                      |
| Citation     | 大阪大学, 2023, 博士論文                                                            |
| Version Type | VoR                                                                         |
| URL          | <a href="https://doi.org/10.18910/92105">https://doi.org/10.18910/92105</a> |
| rights       |                                                                             |
| Note         |                                                                             |

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

The University of Osaka

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 柳 原 瑞 士 )

## 論文題名

HIV潜伏感染再活性化能を有するansellone類及びその誘導体の合成・活性評価と構造単純化による構造活性相関研究

## 論文内容の要旨

世界中で大きな問題となっている感染症の中に、ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus, HIV) 感染症がある。HIVとは、Tリンパ球やマクロファージなどの免疫細胞に感染するウイルスである。HIVがそれらに感染した結果、細胞中でHIVが増殖して免疫細胞を破壊し、通常では感染しない病原体にも感染しやすくなる。このようにして様々な病気を発症するようになった状態をAIDS (acquired immunodeficiency syndrome) という。HIV感染症の現行の治療法としては、抗HIV薬を組み合わせた多剤併用療法が用いられている。抗HIV薬による副作用や、薬剤耐性ウイルスの出現などの懸念点は主張されていたが、近年の研究の発展により、有効かつ安全性の高い薬剤がいくつも開発され、問題点を解決してきた。このように、治療法の進歩によってAIDSは致命的な疾患ではなく、慢性的な感染症になった。

しかし、抗HIV薬はHIVの増殖を抑制できるが、HIVを完全に体内から排除できないことが課題として残されている。服薬を中断すると再びウイルスが増殖し始めることから、一度HIVに感染してしまうと、生涯にわたって服薬を続ける必要がある。そのため、QOLの観点から、HIVを根治するための方法の開発が強く望まれている。このような背景下、近年、Shock & Kill法がHIV感染症の根治法として注目されている。Shock & Kill法とは、HIV潜伏感染細胞に薬剤で刺激 (shock) を与えることで、細胞が再活性化され発生してきたHIVを根絶 (Kill) することで、根本的な解決を図ろうとする方法である。ここで刺激を与える薬剤をLRA (latency-reversing agent) と呼び、これまでも本活性を有する化合物が報告された。しかし、今日までに、臨床試験において有効性を示したLRAは報告されていない。

一方、2010年より、環太平洋周辺の海綿から、セスタテルペノイドに分類されるansellane類が単離されている。Ansellone類は、ヒドロベンゾピラン (HBP) 骨格とデカリン骨格が結合した特徴的な構造を有する化合物であり、ansellone A (**1**, 8.4% HIV再活性化, 10  $\mu\text{M}$ ) やansellone G (**2**, 1.4% HIV再活性化, 30  $\mu\text{M}$ ) がLRA活性を有することが報告されている。これまでに、**1**とphorbadione (**3**) の合成がTongらによって報告されているが、HBP骨格の構築において3工程を要し、かつ立体選択性が低いことが課題として残されていた。また、合成品の生物活性評価は実施されていなかった。そこで筆者は、既知合成法の問題点を解決し、かつ誘導体合成も可能な力量あるansellone類の新規合成法を開発することで、ansellone類の構造活性相関研究を展開すべく、研究に着手した。

筆者は、ansellone類のHBP骨格の構築にPrins環化反応の適用を考案した。Prins環化反応は、ホモアリルアルコールとアルデヒドを用いたエン反応の一種であり、テトラヒドロピラン環を高立体選択的に与えることが知られていることから、ansellone類のHBP骨格を1工程かつ立体選択的に構築できると考えた。

既に著者は博士前期課程において、Prins環化反応を用いた合成戦略により、Tongらの合成中間体**7**を合成し、**1**の形式合成を達成している。そこで筆者は、博士後期課程ではまず、合成中間体**7**から**1**までの合成を目指した (第一章第一節)。種々検討した結果、Tongらの反応条件では、再現性よく**1**を得ることができなかったが、反応条件を変更することで、再現性よく**1**を得ることができた。**1**を合成するまでの最長工程数は13工程、総収率は2.5%であり、Tongらの16工程、0.75%を上回ったことから、工程数の削減と総収率の向上に成功した。

さらに、**1**の合成法を応用し、他のansellone類を合成した (第一章第二節)。ホモアリルアルコール**4**とアルデヒド**9**を用いたPrins環化反応では、環化後の酸素官能基の導入が課題になった。そこで、事前に官能基化されたホモアリルアルコール**20a**を用いたPrins環化反応を用いることで、その後の酸素官能基の導入が容易になり、**2**を効率よく合成することができた。また、**2**の第三級アルコールの脱水反応により、**3**の合成も達成した。

今回合成した天然有機化合物**1**～**3**及び、C22位の置換基に着目して合成した**1**の誘導体**27**～**29**について、LRA活性を評価した (第一章第三節)。その結果、合成した**1** ( $\text{EC}_{50} = 1.1 \mu\text{M}$ )、**2** ( $\text{EC}_{50} > 10 \mu\text{M}$ )、及び**3** ( $\text{EC}_{50} > 10 \mu\text{M}$ ) は文献の報告通りの活性を示した。

また、化合物**28** ( $EC_{50} > 10 \mu M$ )、**29** ( $EC_{50} > 10 \mu M$ )は活性をほとんど示さなかったのに対し、化合物**27** ( $EC_{50} = 0.57 \mu M$ )は**1**よりも高い活性を示したことから、**1**の構造活性相関について考察した。一方、天然有機化合物**1**~**3**は、基本骨格が同じであるにもかかわらず、活性に大きな違いが見られた。その要因について計算科学を用いて考察したところ、それぞれの化合物の立体配座が活性に影響を与えていることが示唆された。

さらに今回筆者は、ansellone類の構造単純化に取り組み、簡便に合成可能な炭素鎖に変更した化合物**33**を設計・合成・評価した（第二章）。その結果、二つの化合物**33i** ( $EC_{50} = 3.2 \mu M$ )と**33j** ( $EC_{50} = 3.7 \mu M$ )が**1**に匹敵する活性を示した。その要因について計算科学を用いて考察したところ、ansellone類のC11位は、活性発現上、必要不可欠ではないが、立体を制御するために働いていることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

| 氏 名 ( 柳 原 瑞 士 ) |     |     |       |
|-----------------|-----|-----|-------|
|                 | (職) |     | 氏 名   |
| 論文審査担当者         | 主 査 | 教授  | 有澤 光弘 |
|                 | 副 査 | 教授  | 小比賀 聡 |
|                 | 副 査 | 准教授 | 澤間 善成 |

## 論文審査の結果の要旨

世界中で大きな問題となっている感染症の中に、ヒト免疫不全ウイルス (human immunodeficiency virus, HIV) 感染症がある。HIVとは、Tリンパ球やマクロファージなどの免疫細胞に感染するウイルスである。HIVがそれらに感染した結果、細胞中でHIVが増殖して免疫細胞を破壊し、通常では感染しない病原体にも感染しやすくなる。このようにして様々な病気を発症するようになった状態をAIDS (acquired immunodeficiency syndrome) という。HIV感染症の現行の治療法としては、抗HIV薬を組み合わせた多剤併用療法がある。抗HIV薬による副作用や、薬剤耐性ウイルスの出現などの懸念点は主張されていたが、近年の研究の発展により、有効かつ安全性の高い薬剤がいくつも開発され、これらの問題点を解決してきた。このように、治療法の進歩によってAIDSは致命的な疾患ではなくなった。

しかし、抗HIV薬はHIVの増殖を抑制できるが、HIVを完全に体内から排除できないことが課題として残されている。服薬を中断すると再びウイルスが増殖し始めることから、一度HIVに感染すると、生涯にわたって服薬を続ける必要がある。それ故、Quality of Life (QOL) の観点から、HIV感染症根治法の開発が望まれている。このような背景下、近年、Shock & Kill法がHIV感染症の根治法として注目されている。Shock & Kill法とは、HIV潜伏感染細胞に薬剤で刺激 (shock) を与えることで、細胞が再活性化され発生してきたHIVを根絶 (Kill) することで、根本的な解決を図ろうとする方法である。ここで刺激を与える薬剤をLRA (latency-reversing agent) と呼び、これまでに本活性を有するいくつかの化合物が報告されてきた。しかし、今日までに、臨床試験において有効性を示したLRAは報告されていない。

一方、2010年より、環太平洋周辺の海綿から、セスタテルペノイドに分類されるansellone類が単離されている。Ansellone類は、ヒドロベンゾピラン (HBP) 骨格とデカリン骨格が結合した特徴的な構造を有する化合物であり、ansellone A (**1**, 8.4% HIV再活性化, 10  $\mu$ M) やansellone G (**2**, 1.4% HIV再活性化, 30  $\mu$ M) がLRA活性を有することが報告されている。これまでに、**1**とphorbadiolone (**3**) の合成がTongらによって報告されているが、HBP骨格の構築に3工程を要し、かつ立体選択性が低いことが課題として残されていた。また、合成品の生物活性評価は実施されていなかった。そこで筆者は、既知合成法の問題点を解決し、かつ誘導体合成も可能な力量あるansellone類の新規合成法を開発することで、ansellone類の構造活性相関研究を展開すべく、研究に着手した。

筆者は、ansellone類のHBP骨格の構築にPrins環化反応の適用を考案した。Prins環化反応は、ホモアリルアルコールとアルデヒドを用いたエン反応の一種であり、テトラヒドロピラン環を高立体選択的に与えることが知られていることから、ansellone類のHBP骨格を1工程かつ立体選択的に構築できると考えた。

既に著者は博士前期課程において、Prins環化反応を用いてHBP骨格を構築することで、Tongらの合成中間体を合成し、**1**の形式合成を達成している。以下、本論文の成果について述べる。

第一章第一節では、Tongらの合成中間体から**1**までの合成を目指し、全合成を達成している。種々検討した結果、Tongらの反応条件では、再現性よく**1**を得ることができなかった。その原因を反応が均一系でなかったことだと考え、均一系で進行するような反応条件に変更したところ、再現性よく**1**を得ることができた。**1**を合成するまでの最長工程数は13工程、総収率は2.5%であり、Tongらの16工程、0.75%を上回ったことから、工程数の削減と総収率の向上に成功している。

第一章第二節では天然有機化合物**2**と**3**の全合成を達成している。すでに筆者は、Prins環化反応を用いることで、HBP骨格を構築している。したがって、この合成戦略を用いれば、他のansellone類の合成も可能ではないかと考え

た。Ansellone類を効率よく合成する手法の開発は、ansellone類の構造活性相関研究を展開する上で、重要である。そこで、**1**の合成戦略に則り合成を進めたところ、環化後に酸素官能基を導入する点に課題が発生した。そこで、より酸化段階の高いホモアリルアルコールを用いたPrins環化反応について検討した。種々検討した結果、アリル位がクロロ基で置換されたホモアリルアルコールを用いることで、環化後の酸素官能基の導入が容易になり、**2**を効率よく合成することが可能となった。さらに、**2**の第三級アルコールの脱水反応により、**3**も同時に合成することができている。

第一章第三節では、合成した**1**～**3**及び**1**の誘導体を設計・合成し、続く生物活性評価を経て、構造活性相関について考察した。誘導体合成では、**1**とこれまでに報告されているLRAであるprostratinやPEP005との構造を比較し、アリルアルコールが活性に影響を与えているのではないかという考察のもと、三種類合成している。まず、**1**～**3**の活性を評価したところ、文献の報告通りの活性を示した。続いて、**1**の誘導体について評価・考察した結果、C22位の酸素原子が活性発現に必要であることを見出し、**1**のアセチル基は細胞内で除去され活性を発現していると考えられる。さらに、**1**～**3**の活性の差について、それぞれの立体構造に着目し、計算化学を用いて考察しており、その結果、C11位のヒドロキシ基による分子内水素結合が化合物の立体構造に影響与えている可能性について述べている。

第二章では、ansellone類の構造単純化について述べている。筆者は、ansellone類について、改めてprostratinやPEP005の構造と比較することで、ファーマコフォアと予想される部分（HBP骨格）と構造変換の余地が部分（デカリン骨格）に分類した。その上で筆者は、第一章で展開した考察に基づき、適切な立体構造を取ることができれば、ansellone類のデカリン骨格はより単純な炭素鎖に置き換え可能であると考えた。そこで、LRA活性を示すために必要な炭素鎖の種類や長さ、官能基について調査した結果、化合物の疎水性の高さが活性に影響を与えていることが示唆された。また今回、側鎖にエーテルを有する化合物と側鎖にアルケンを有する化合物の二つの化合物が**1**に匹敵する活性を示した。これら化合物について立体構造を検証したところ、当初の想定通り、適切な立体構造を取りうることが活性発現に寄与している可能性について示されている。

以上の研究は、ansellone類とその誘導体の設計・合成・生物活性評価を経て、構造単純化を進めることで二種の有望な化合物を見出すに至ったものであり、HIV感染症の根治を目指す上で重要な研究であると判断し、博士（薬科学）の学位論文に値するものと認める。