

京都大学	博士 (薬科学)	氏名	水原 司
論文題目	Development of Novel Anti-HIV Pyrimidobenzothiazine Derivatives (新規抗HIV活性化化合物、ピリミドベンゾチアジン誘導体の開発)		

(論文内容の要旨)

近年、HIV 感染症の治療には、逆転写酵素阻害剤やプロテアーゼ阻害剤を組み合わせた HAART 療法が主に適用され、一定の治療効果をあげることに成功している。しかしながら、従来の薬剤に対する耐性株の出現が問題となっており、耐性株にも有効な膜融合阻害剤やインテグラーゼ阻害剤をはじめとする新規作用機序を有する薬剤が開発されている。

このような背景のもと、著者は、化合物ライブラリーのスクリーニングにより見出された新規抗 HIV 活性化化合物 PD 404182 (Figure 1、**1**) の高活性誘導体の創出を目的として、新規合成法の開発と構造活性相関研究を行った。また、その結果を基に本化合物の標的分子探索に利用するプローブ分子の設計・合成へ展開した。

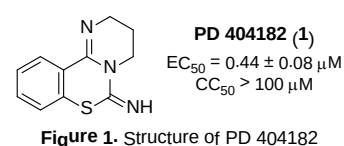
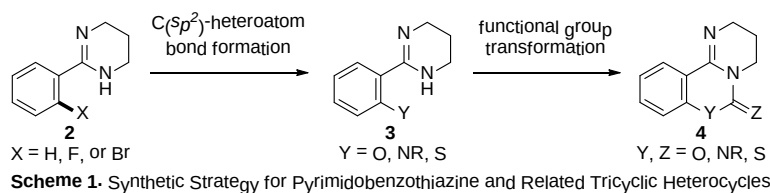


Figure 1. Structure of PD 404182

第1章：ピリミドベンゾチアジン骨格とその誘導体の分岐的合成法の開発

第1節：銅塩を用いたオルト位選択的分子間 C-H 官能基化反応の開発

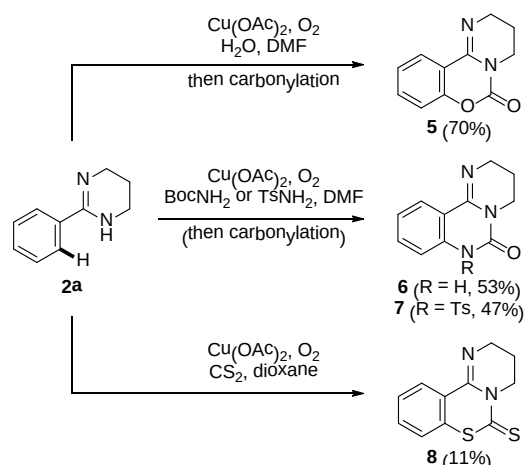
著者は、PD 404182 の特徴的な複素環骨格の抗HIV活性に対する重要性を精査するため、異なるヘテロ原子



Scheme 1. Synthetic Strategy for Pyrimidobenzothiazine and Related Tricyclic Heterocycles

子を配置した多様な複素環骨格を分岐的に構築可能な合成法の開発を計画した (Scheme 1)。すなわち、ベンズアルデヒド誘導体から容易に調製可能な 2-フェニル-1,4,5,6-テトラヒドロピリミジン誘導体 **2** を鍵合成中間体とし、これに対する sp^2 炭素-ヘテロ原子結合形成反応を基盤とした方法が有用であると考えた。

まず、基質のハロゲン化等の前段階の官能基変換が不要である C-H 官能基化反応を検討した (Scheme 2)。



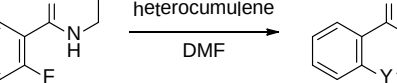
Scheme 2. Synthesis of Heterocycles by C-H Functionalization

検討を行った結果、 H_2O や $BocNH_2$ 、 $TsNH_2$ 、二硫化炭素をはじめとする様々な求核種が、基質のオルト位に選択的に導入可能であること、また、得られた誘導体からさまざまな複素環骨格が合成可能であることを見出した。

第2節：ヘテロクムレンを用いた芳香族求核置換反応の開発

第1章第1節において開発した C-H 官能基化反応は、C-S 結合形成の効率が低く、PD 404182 のピリミドベンゾチアジンイミン骨格の構造最適化研究において実用的でないことが判明した。このため、予めアミジン置換基のオルト位にハロゲン原子を導入した化合物 **2b** への芳香族求核置換反応による三環性骨格の構築を検討した (Table 1)。その結果、ヘテロクムレンとして二硫化炭素を用いた時に C-S 結合形成が高収率で進行する条件を見出した (entry 1)。また、本条件をイソシアネートやイソチオシアネートとの反応にも適用し、異なる複素環骨格を有する PD 404182 誘導体 **9–13** を容易に得る合成プロセスを確立した (entry 2–5)。さらに、誘導体 **8** 及び **9** から高収率で PD 404182 が合成可能であることを明らかにした。

Table 1. Synthesis of Heterocycles by S_NAr Reaction



Reaction scheme showing the synthesis of heterocycles from compound **2b** (2-fluoro-1H-pyrimidin-4-ylidene-1H-imidazole) using NaH and heterocumulene in DMF. The product is a heterocycle where the fluorine atom is replaced by a heterocumulene-derived group (Y, Z = O, NR, S).

entry	heterocumulene	product: Y	Z	yield (%)	
1	CS ₂	8	S	S	86
2	<i>t</i> -BuNCS	9	S	N <i>t</i> -Bu	62
3	<i>t</i> -BuNCO	10	O	N <i>t</i> -Bu	18
		11	N <i>t</i> -Bu	O	54
4	BnNCS	12	NBn	S	>99
5	BnNCO	13	NBn	O	>99

第2章：高活性誘導体の創出を目指した PD 404182 誘導体の構造活性相関研究

第1章において確立した合成法を用い、PD 404182 からの構造最適化を検討した (Figure 2)。PD 404182 を3つの部分構造に分けて構造最適化を計画し、①チアジンイミン骨格のヘテロ原子の変換、②ベンゼン環への置換基の導入もしくは複素環への変換、③ピリミジン環の五員環および七員環への変換や置換基を導入した各種誘導体を合成し、抗 HIV 活性を評価した。その結果、PD 404182 と比較して2倍以上強力な抗 HIV 活性を示す化合物 (**14**, **15**) を見出すとともに、興味深い構造活性相関情報を得た (Figure 3)。

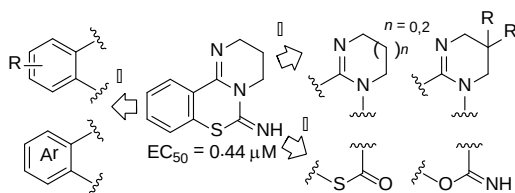


Figure 2. SAR Study of PD 404182

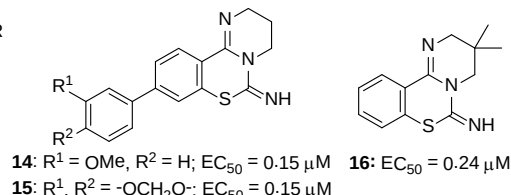


Figure 3. Structures of Highly Potent Derivatives

第3章：PD 404182 の標的分子探索を目指した光親和性プローブの開発

PD 404182 誘導体の作用機序に関する知見を得るために、標的タンパク質の探索実験を行うことを計画した。第2章における構造活性相関研究により、ベンゼン環及びアミジン環部位への構造変換が可能であることが判明したため、この2つの部位に光反応性官能基であるベンゾフェノン及びビオチン標識基を導入した2種類のプローブを設計・合成した。得られたプローブの抗 HIV 活性は、PD 404182 に比較して若干低下したものの十分な活性を保持しており、これらのプローブを用いて、HIV-1 の持続感染細胞のタンパク質の光ラベル実験を行ったところ、プローブに特異的に結合する複数のタンパク質を検出することができた。

(論文審査の結果の要旨)

著者はランダムスクリーニングによって見出した抗 HIV 活性を有する低分子化合物 PD 404182 の基盤となるピリミドベンゾチアジン骨格およびその類縁骨格の効率的な新規合成法を開発した。続いて、新規合成法を利用して各種誘導体を合成し、構造活性相関研究を通じて PD 404182 を上回る高活性抗 HIV 化合物の創出に成功した。更に、構造活性相関情報に基づいて設計した光反応プローブを用いて標的タンパク質の光ラベル化実験を行った。

最初に著者は、PD 404182 誘導体の合成法として、アミジンを配向基とするベンゼン環の C-H 官能基化反応を検討した。反応条件を精査した結果、銅塩存在下、2-フェニルテトラヒドロピリミジンに様々な求核種を作用させた場合に C-O、C-N、C-S 結合をオルト位選択的に導入可能であることを明らかにし、異なる複素環骨格を共通の基質から分岐的に合成できることを見出した。

続いて著者は、ハロアレーンに対するヘテロクムレンの芳香族求核置換反応による PD 404182 誘導体の合成法に検討を加えた。著者は、二硫化炭素をはじめとする様々なヘテロクムレンを用いて検討を行い、本法を用いても多様な三環性複素環骨格が分岐的に合成可能であり、短工程で PD 404182 およびその類縁体を容易に合成できることを明らかにした。

次に著者は、これらの反応を利用して新規抗 HIV 剤の構造最適化研究を行った。中心骨格、ベンゼン環、アミジン環のそれぞれについて種々官能基変換した誘導体を合成し、リード化合物に比べ約 3 倍の活性を有する誘導体を得た。また、得られた高活性誘導体を用いて詳細に抗 HIV 活性プロファイルを評価した結果、1) 本化合物がウイルス感染の初期段階を阻害していること、2) 既存の薬剤とは異なった作用機序を有すること、を示唆する実験結果を得た。

最後に著者は、PD 404182 の標的分子探索に用いる光反応性プローブを設計・合成した。合成したプローブを用いて光ラベル化実験を行ったところ、PD 404182 に特異的に結合する複数のタンパク質を検出した。

本研究において開発されたピリミドベンゾチアジン誘導体は、既存の抗 HIV 剤とは異なる作用機序を有している上、HIV 以外の各種エンベロープウイルスに対する抗ウイルス活性を示すことから、HIV 感染症の新規治療薬の候補化合物として、また HIV の感染機構を解明するための探索子として有用であると判断される。

よって本論文は博士(薬科学)の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成25年2月22日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 25 年 7 月 1 日以降