

平成 30 年 5 月 21 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07866

研究課題名(和文) 殺原虫活性を有する新規12員環マクロライド天然物の全合成研究

研究課題名(英文) Toward the total synthesis of novel anti-protozoal 12-membered macrolides

研究代表者

廣瀬 友靖 (Hirose, Tomoyasu)

北里大学・感染制御科学府・准教授

研究者番号：00370156

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：アフリカトリパノソーマ症は原虫感染症であり、年間死者数は1万8千人に及び、新規薬剤の開発が望まれている。そのような背景の下、北里生命科学研究所において放線菌よりActinoallolide Aが見出された。本物質は強い抗トリパノソーマ活性を示すことから、本研究では多様な類縁体合成が可能なActinoallolide Aの全合成経路の確立に着手した。最初にActinoallolide Aの絶対立体配置を決定し、その収束的な合成を開始した。現在までにActinoallolide Aの全炭素骨格を有する鎖状中間体の合成を達成した。今後、本物質の全合成ルート構築と創薬研究の進行が期待される。

研究成果の概要(英文)：Trypanosomiasis is caused by the parasitic flagellated protozoa. During the course of physicochemical screening for metabolites, new anti-trypanosomal macrolides, actinoallolides, were discovered. Among them, actinoallolide A showed most potent and selective anti-trypanosomal activity. Due to its intriguing architectural structure and interesting biological activity, we thus became interested to determination of their absolute and total synthesis of actinoallorides.

We first determined the absolute configuration of actinoalloride A by single-crystal X-ray crystallographic analysis of its acylation derivative. We next commenced to pursue the synthetic studies of actinoalloride A to provide clarification of detailed structure-activity relationships. So far, we have achieved the synthesis of an essential intermediate including full carbon framework in the total synthesis of Actinoallolide A.

研究分野：天然物合成化学

キーワード：全合成 アクチノアロライド マクロライド トリパノソーマ 新規天然物

### 1. 研究開始当初の背景

アフリカトリパノソーマ症はツェツェバエが媒介する寄生性原虫トリパノソーマによって引き起こされる原虫感染症であり、年間感染者数は1840万人以上、死者は1万8千人に及ぶ。本感染症はワクチンによる予防が困難であり、その対策は投薬治療に頼らざるを得ない。しかしながら既存薬には重篤な副作用が確認されており、新規薬剤の開発が望まれている。そのような背景の下、北里生命科学研究所におけるフィジケミカルスクリーニングの結果、放線菌 *Actinoallomurus fulvus* MK10-036 株培養液から新規天然物 Actinoallolide 類が単離され (Fig. 1)、これらに *in vitro* 抗トリパノソーマ活性が認められた。

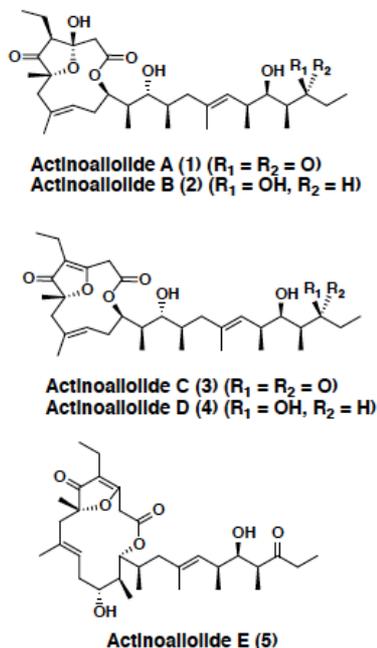


Fig. 1 Actinoallolide類

特に Actinoallolide A (1) は既存薬に匹敵する強い抗トリパノソーマ活性を示し ( $IC_{50} = 4.9 \text{ ng/mL}$ )、ヒト胎児肺細胞 (MRC-5) に対して高濃度処理においても毒性を示さない ( $IC_{50} = > 100 \text{ } \mu\text{g/mL}$ ) ことから、新規アフリカトリパノソーマ症治療薬として期待がもたれた。一方で *in vivo* 試験においては活性が消失するという事実も判明しており、1 の生体内安定性の改善が必須となった。

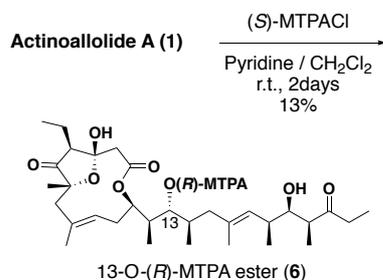
### 2. 研究の目的

本研究では Actinoallolide A (1) をリードとして、*in vivo* における高い抗トリパノソーマ活性及び高いヒト安全性を兼ね備えた新規アフリカトリパノソーマ症治療薬創製を最終目的として、1 を標的とした多様な類縁体合成が可能な全合成経路の確立に着手した。

### 3. 研究の方法

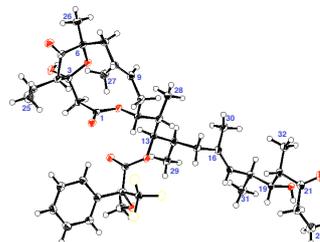
まず Actinoallolide A (1) の全合成を行うにあたり、1 の絶対立体構造を決定する必要が

あった。最初に 1 が有する 2 つの第二級水酸基に着目し、この部分の絶対立体配置の決定を行った。具体的には 1 の第二級水酸基を MTPA エステル化し改良モッシャー法による絶対立体配置の決定を試みることにした。ピリジン存在下、1 に対し (S)-MTPACl を作用させ、生成物を HPLC により分離したところ、13 位水酸基のみに MTPA 基が導入された 6 を得ることが出来た (Scheme 1)。



Scheme 1 Actinoallolide A (1) の MTPA エステル化

また、この 6 は結晶化が可能であり、得られた単結晶の X 線結晶構造解析よりその相対立体配置の情報が得られた。

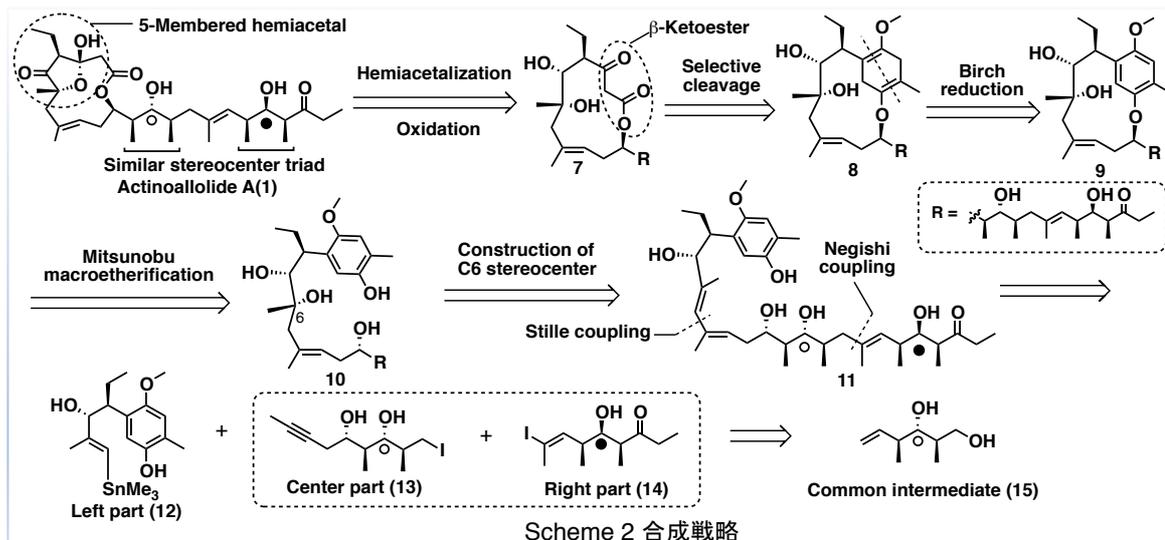


ORTEP diagram of 6

Fig. 2 13-O-(R)-MTPA ester (6) の ORTEP 図

そして 6 に導入した MTPA 基の絶対立体配置 (R 配置) を元に、6 の絶対立体配置を Scheme 1 に示すように決定し、1 の絶対立体配置を Fig. 2 に示すように決定した。次に 1 からアセタールの脱水反応、側鎖部ケトンの還元、トランスラクトン化による 14 員環形成を組み合わせ、Actinoallolide B (2) - E (5) への変換を行った。得られた各生成物の各種機器データが天然物のそれと一致したことから全ての Actinoallolide 類の絶対立体配置を Fig. 1 に示すように決定した。

次に 1 の収束的な全合成ルートの立案を行った (Scheme 2)。1 の構造的特徴としては、12 員環マクロラクトン内に五員環ヘミアセタールを有すること、及び側鎖に 3 連続類似不斉中心を有していることが挙げられる。複雑な構造を有する 1 を合成するにあたりこの 2 つの構造的特徴に即し下に示



す合成戦略を立案した。1つ目の構造的特徴である五員環ヘミアセタールは、前駆体となる $\beta$ -ケトエステル (7)が種々の反応条件に対して不安定である事が予想されるため、 $\beta$ -ケトエステル骨格は合成終盤において構築することとし、その前駆体を合成終盤まで安定な構造として存在させておく必要があると考えた。そこで7の前駆体として含ベンゼン大環状エーテル (9)を設定し、9から7を導くこととした。即ち、シクロヘキサジエン (8)は9のBirch還元により導き、これに対し3置換オレフィン存在下エノール性オレフィン選択的酸化開裂を行うことにより7に導くこととした。また、9は10の光延マクロエーテル化により得られると考えた。

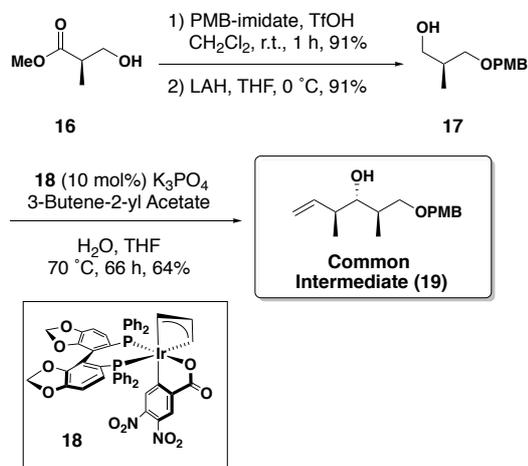
次に、2つ目の構造的特徴である鎖状構造上に位置する3連続類似不斉中心に着目し、収束的な合成戦略へと導くこととした。即ち、10の6位に存在するキラルな4置換炭素をジエン (11)より導くこととし、11はベンゼン環を有するLeft part (12)及び3連続類似不斉中心を含むCenter part (13)、Right part (14)へと分割した。13及び14の2つの3連続類似不斉中心は共通中間体 (15)から導く事ができこの事は効率的かつ多様な類縁体合成が可能な全合成経路に繋がると考えた。

#### 4. 研究成果

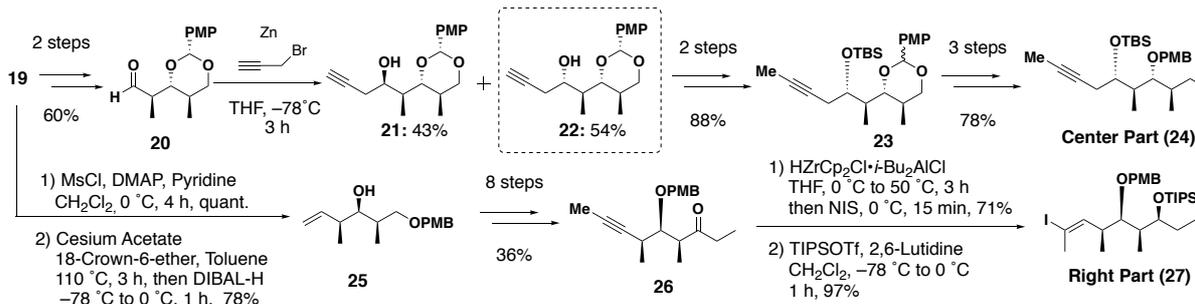
##### 各部分構造の合成

先に立案した合成戦略に従い、Center part、Right part 及び Left part の合成を行った。

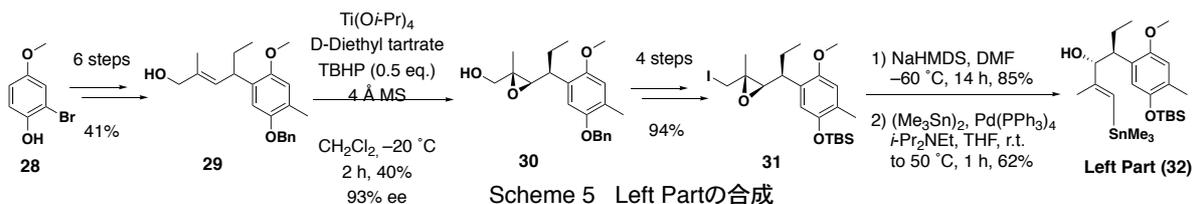
まず、Center part 及び Right part の共通中間体 (19)は、容易に入手可能な16をアルコール (17)とした後、触媒量の光学活性イリジウム錯体 18 を用いた不斉クロチル化反応に付すことにより立体選択的に合成することが出来た(Scheme 3)。



次に Center part の合成においては、まず共通中間体 (19)よりアルデヒド(20)とした後、Zn 及びプロパルギルブロミドを用いてプロピルユニットの導入を行った(Scheme 4)。この際生じたジアステレオマー21 及び 22 はシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより容易に分離可能であり所望の 22 を収率 42%で得ることが可能であった。その後5工程を経てCenter part (24)の合成を達成した。また、Right part の合成は19が有する第二級水酸基の立体反転から開始した。即ち、19をMs化した後に、酢酸セシウムを用い立体反転を伴うアセテートの導入を行った後、該アセテートを還元し、水酸基の立体反転を行った。その後8工程を経てケトン (26)とし、Schwartz's 試薬を用いたケトンの立体選択的還元を伴うビニルヨウ素化、続く水酸基の保護によりRight part (27)の合成を達成した。



Scheme 4 Center Part および Right Partの合成



Scheme 5 Left Partの合成

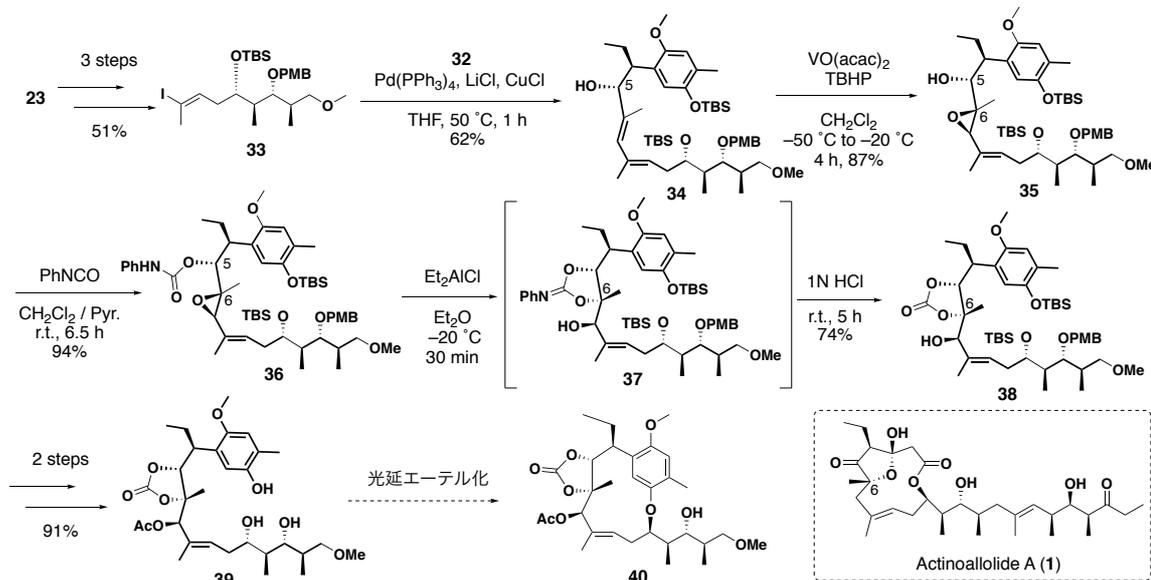
Left part の合成においてはベンジル位の不斉炭素を如何にして得るかが問題となる。種々検討の結果、これは速度論的光学分割を行うことにより達成した。即ち、市販のフェノール **28** より 6 工程を経て得たアリルアルコール (**29**) を、Sharpless 不斉エポキシ化条件に付すことで速度論的光学分割を行い、光学活性エポキシアルコール (**30**) を得た (Scheme 5)。その後 6 工程を経て Left part (**32**) の合成を達成した。

#### Left part 及び Center part を用いた環化体の合成

本合成戦略において重要な位置を占める大環状エーテル (**9**) (Scheme 2 参照) は光延マクロエーテル化により合成する必要があるが、

このように高度に官能基化された基質を用いる大環状エーテル合成をしている例は現在までに知られていない。このためこの環化は早い段階で進行を確認しておく必要があると考えられた。そこで筆者は Left part 及び Center part を用いてマクロエーテル化の検討を行うこととした。

検討に際し Center part は、Right part とのカップリングを必要としないため右末端の反応性及び立体障害を抑えた Center part モデル (**33**) を設定した (Scheme 6)。Left part (**32**) とのカップリングは LiCl, CuCl を添加剤として用いた Stille カップリングによりジエン (**34**) を与え、続く 5 位水酸基を足がかりとした位置及び立体選択的エポキシ化によりエポキシアルコール (**35**) を得ること

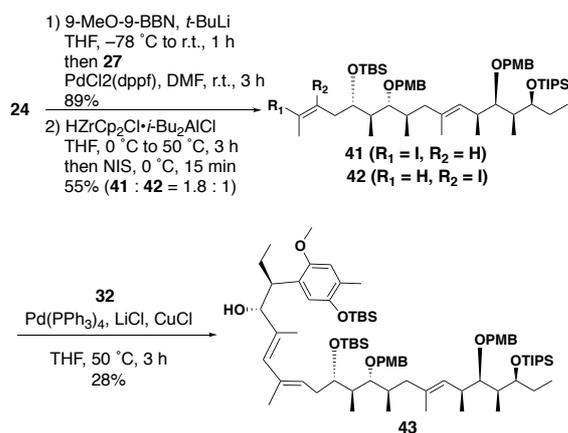


Scheme 6 Left part および Center part を用いた環化体の合成

が出来た。しかし、生じた 6 位の立体化学は **1** とは異なり、立体反転が必要であった。そこで次の検討を行った。即ち、5 位水酸基に *N*-フェニルカーバメートを導入した後、Et<sub>2</sub>AlCl によりエポキシドを活性化させると窒素からの電子の押し出しを伴いカルボニル基から 6 位への求核攻撃が進行し **37** が生成、続く加水分解により望む立体化学を有するカーボネート (**38**)を得ることが出来た。この **38** を環化前駆体 (**39**)へと導き、光延反応を利用して大環状エーテル (**40**)への変換を検討している。

#### Actinoallolide A の全炭素骨格を有する鎖状中間体の合成

本合成戦略における各部分構造の連結のうち、残る Center part と Right part のカップリングは鈴木カップリングにより達成した。さらにカップリング体のビニルヨウ素化により **41** および **42** を得た後、Left part (**32**)との Stille カップリングを行い鎖状中間体 (**43**)の合成を達成した(Scheme 7)。



Scheme 7 Actinoallolide A (**1**)の全炭素骨格を有する鎖状中間体の合成

#### まとめ

北里生命科学研究所において単離されたアフリカトリパノソーマ症治療薬リード化合物として期待される Actinoallolide 類はその絶対立体配置が未決定であった。筆者はまず、これらの絶対立体配置を決定し、さらには Actinoallolide A (**1**)をリードとした創薬研究の展開を意図して収束的な合成戦略を立案した。この戦略に基づき、各部分構造の合成を達成した後、合成戦略上において困難が予想された大環状エーテルの合成を Left part 及び Center part を用いたモデル基質において検討し環化体を得たと考えている。また、現在までに **1** の全炭素骨格を有する鎖状中間体の合成を達成しており、本知見を用いた **1** の全合成ルート構築及びその後の創薬研究の進行が期待される。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Yuki Inahashi, Masato Iwatsuki, Aki Ishiyama, Atsuko Matsumoto, Tomoyasu Hirose, Jun Oshita, Toshiaki Sunazuka, Watanalai Panbangred, Yoko Takahashi, Marcel Kaiser, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Ōmura, “Actinoallolide A-E, new anti-trypanosomal macrolides, produced by an endophytic actinomycete, *Actinoallomurus fulvus* MK10-036” *Org. Lett.*, **2015**, *17*, 864-867. 査読あり
- ② Takeshi Yamada, Tetsuya Ideguchi-Matsushita, Tomoyasu Hirose, Tatsuya Shirahata, Rei Hokari, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Akihiro Sugawara, Yoshinori Kobayashi, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Omura, Toshiaki Sunazuka “Asymmetric Total Synthesis of Indole Alkaloids Containing an Indoline Spiroaminal Framework” *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, 11855-11864. 査読あり
- ③ Jun Oshita, Yoshihiko Noguchi, Akito Watanabe, Goh Sennari, Shogo Sato, Tomoyasu Hirose, Daiki Oikawa, Yuki Inahashi, Masato Iwatsuki, Aki Ishiyama, Satoshi Ōmura and Toshiaki Sunazuka “Towards the total synthesis of the anti-trypanosomal macrolide, Actinoallolides: construction of a key linear intermediate” *Tetrahedron Lett.*, **2016**, *57*, 357-360. 査読あり
- ④ Shohei Toguchi, Tomoyasu Hirose, Kazuko Yorita, Kiyoshi Fukui, K. Barry Sharpless, Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka “In Situ Click Chemistry for the Identification of a Potent D-Amino Acid Oxidase Inhibitor.” *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 695-703. 査読あり
- ⑤ Noguchi Yoshihiko, Hirose Tomoyasu, Ishiyama Aki, Iwatsuki Masato, Otoguro Kazuhiko, Sunazuka Toshiaki, Ōmura Satoshi “Synthesis and stereochemical determination of an antiparasitic pseudo-aminal type monoterpene indole alkaloid.” *J. Nat. Med.* **2016**, *70*, 302-317. 査読あり
- ⑥ Tomoyasu Hirose, Toshiaki Sunazuka, Satoshi Ōmura “Rapid Identification via In Situ Click Chemistry of a Novel Chitinase Inhibitor” *Journal of Synthetic Organic Chemistry (Yuki Gosei Kagaku Kyokaiishi)*, **2016**, vol.74, No.11, 1090-1097. 査読あり
- ⑦ Hirokazu Takada, Takeshi Yamada, Tomoyasu Hirose, Takuma Ishihara, Takuji Nakashima, Yoko Takahashi, Satoshi Omura, Toshiaki Sunazuka “Total Synthesis and Determination of the Absolute Configuration of Naturally

Occurring Mangromycin A, With Potent Anti-Trypanosomal Activity” *Org. Lett.* **2017**, *19*, 230-233. 査読あり

- ⑧ Tomoyasu Hirose, Yasuhiko Kojima, Hidehito Matsui, Hideaki Hanaki, Masato Iwatsuki, Kazuro Shiomi, Satoshi Ōmura and Toshiaki Sunazuka “Total synthesis of (±)-naphthacemycin A9, possessing both antibacterial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and circumventing effect of β-lactam resistance” *J. Antibiot.*, **2017**, *70*, 574-581. 査読あり
- ⑨ Takuji Nakashima, Toru Kimura, Rei Miyano, Hirotaka Matsuo, Tomoyasu Hirose, Aoi Kimishima, Kenichi Nonaka, Masato Iwatsuki, Jun Nakanishi, Yoko Takahashi and Satoshi Ōmura “Nanaomycin H: A new nanaomycin analog” *Journal of Bioscience Bioengineering*, **2017**, *123*, 765-770. 査読あり
- ⑩ Goh Sennari, Ryo Saito, Tomoyasu Hirose, Masato Iwatsuki, Aki Ishiyama, Rei Hokari, Kazuhiko Ootoguro, Satoshi Ōmura, and Toshiaki Sunazuka “Antimalarial troponoids, puberulic acid and viticolins; divergent synthesis and biological evaluation” *Scientific Report*, **2017**, doi: 10.1038/s41598-017-07718-3. 査読あり
- ⑪ Takeshi Yamada, Yuki Horimatsu; Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Satoshi Omura and Toshiaki Sunazuka “Stereo- and substituent-enabled divergent synthesis of 5,6-spiroketal analogs of avermectin containing a triazole function” *Tetrahedron Lett.*, **2017**, *58*, 3119-3124. 査読あり

[学会発表] (計 9 件)

- ① 渡邊彰人、大下 純、野口吉彦、及川大輝、岩月正人、稲橋佑起、廣瀬友靖、大村 智、砂塚敏明; タイトル; 抗トリパノソーマ活性を有する Actinoallolide A の全合成研究、2015 年 9 月 12 日 第 59 回 日本薬学会 関東支部大会、千葉 (日本大学船橋キャンパス)
- ② T. Hirose, J. Oshita, D. Oikawa, Y. Inahashi, M. Iwatsuki, A. Matsumoto, S. Ōmura and T. Sunazuka; Title; Determination of absolute stereochemistry and toward the total synthesis of actinoallolides, new anti-trypanosomal macrolides, produced by an endophytic actinomycete. 2015 年 10 月 13-16 日, ICCA-14, Galveston Island, Texas, USA
- ③ T. Sunazuka, T. Hirose and S. Ōmura; Title; Isolation and total synthesis of microbial natural products. 2015 年 12 月 15-20 日, pacificchem 2015, Honolulu, Hawaii, US
- ④ 渡邊彰人、大下 純、野口吉彦、及川大輝、廣瀬友靖、稲橋正人、稲橋佑起、大村 智、砂塚敏明; タイトル; 抗トリパノソーマ活性を有する新規マクロライド、Actinoallolide 類の全合成研究、2015 年

3 月 29 日、日本薬学会第 136 年会、横浜 (パシフィコ横浜)

- ⑤ T. Hirose, N. Maita, T. Watanabe, H. Taniguchi, K. B. Sharpless, S. Ōmura and T. Sunazuka; Title; Utilization of in situ click chemistry to discover novel chitin’s inhibitors. 2016 年 5 月 15-18 日、25th French-Japanese Symposium on Medicinal and Fine Chemistry (FJS 2016), Keio Plaza Hotel Tama, Japan
- ⑥ 渡邊彰人、大下 純、野口吉彦、及川大輝、岩月正人、稲橋佑起、廣瀬友靖、大村 智、砂塚敏明; タイトル; 抗トリパノソーマ活性を有する Actinoallolide A の全合成研究、2016 年 6 月 8-9 日、第 109 回有機合成シンポジウム、東京 (東京工業大学大岡山キャンパス)
- ⑦ 渡邊彰人、野口吉彦、廣瀬友靖、佐藤翔悟、千成 恒、岩月正人、稲橋佑起、大村 智、砂塚 敏明; タイトル; 抗トリパノソーマ活性を有する Actinoallolide A の全合成研究、2017 年 3 月 27 日、日本薬学会第 137 年会、仙台 (東北大学)
- ⑧ 廣瀬友靖、中島 琢自、高田 拓和、岩月 正人、山田 健、落合 純也、神谷 義之、石原 拓真、長井 賢一郎、松本 厚子、石山 亜紀、乙黒 一彦、塩見 和朗、高橋 洋子、砂塚 敏明、大村 智; タイトル; 抗トリパノソーマ活性を有するマングロマイシン類の単離、構造決定ならびに不斉全合成、2017 年 9 月 20-22 日、第 59 回天然有機化合物討論会、わくわくホリデーホール (北海道・札幌市民ホール)
- ⑨ 渡邊彰人、野口吉彦、廣瀬友靖、佐藤翔悟、千成 恒、岩月正人、稲橋佑起、大村 智、砂塚敏明; タイトル; 抗トリパノソーマ活性を有する Actinoallolide A の全合成研究、2018 年 3 月 26-28 日、日本薬学会第 138 年会、金沢 (もてなしドーム)

[図書] (計 1 件)

- ① 廣瀬友靖、砂塚敏明; 2018 年 3 月 20 日、CSJ カレントレビュー 天然有機化合物の全合成; 独創的なものづくりの反応と戦略、日本化学会 編

[その他]

ホームページ等

<http://seibutuyuuki.sakura.ne.jp/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

廣瀬友靖 (HIROSE TOMOYASU)

北里大学・感染制御科学府・准教授

研究者番号: 00370156