

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 3 年 6 月 2 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06586

研究課題名(和文) 狭域抗菌スペクトルを有する10-14員環融合型ジマクロライドの全合成と活性の検証

研究課題名(英文) Total synthesis of 10-14 membered ring fused dimacrolides, potent narrow antimicrobial activities

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) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：Luminamicinは他の天然物にない無水マレイン酸に共役したエノールエーテルを含む14員環ラクトンに加え、酸素架橋構造含有シスデカリン骨格と三置換オレフィン含有10員環ラクトンがそれぞれ縮環した特異な構造を有していることから、有機合成化学の観点からも魅力的なターゲットである。本テーマではその全合成経路の確立を目的に研究を行った結果、市販の出発原料から全合成の鍵中間体の合成を完了した後、Luminamicin生産菌の大量培養から天然物を取得したのち、分解反応によって全合成鍵中間体を調製した。そしてその鍵中間体から天然物骨格の再構築を行うことでLuminamicinのリレー全合成を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現在までに承認された医薬品の約6割が天然物由来であるという事実からも、天然物をリード化合物とする創薬研究は依然として重要な研究領域である。このことから新規な骨格をターゲットとする本研究は天然物創薬において意義がある。

これまで他の研究グループによるLuminamicinをターゲットにした全合成研究、創薬研究は報告は無く、世界的に細菌感染症の耐性化が問題視されている現状から、Luminamicinの有する一部の細菌のみへの選択的な抗菌活性の作用メカニズムを解明することは、耐性菌発現を誘導しない抗菌剤創製に繋がる。本研究成果を基盤として、その創薬研究が加速するものと期待できる。

研究成果の概要(英文)：Luminamicin, is not found in other natural products, has a 14-membered lactone that contains an enol ether conjugated to maleic anhydride, and also possess a cis-decalin skeleton containing an oxygen bridge structure connecting to a 10-membered lactone with a trisubstituted olefin. Therefore, Luminamicin is an attractive target from the viewpoint of organic synthetic chemistry.

As a result, we completed the synthesis of the key intermediate for the total synthesis was completed from a commercially available starting material. On the other side, the key intermediate was also obtained by degradation of the natural product, which was supplied by the mass cultivation of a luminamicin-producing strain. Finally, the total synthesis of luminamicin was achieved by the reconstruction of the Luminamicin-skeleton from key intermediate.

研究分野：天然物合成化学

キーワード：Luminamicin 全合成 微生物発酵 ラクトン シスデカリン 構造活性相関

1. 研究開始当初の背景

現在、世界的な感染症治療の問題点の一つとして *Clostridioides difficile* Infections (CDI) に対して有用な治療薬が少ないことが挙げられる。CDIの原因は、抗生物質の投与によって腸内の菌交代が起こることでグラム陽性偏性嫌気性桿菌である *Clostridioides difficile* (*C. difficile*)が異常繁殖し、腸内で毒素を排出するためである。CDIの症状は下痢症が多く通常、水様の下痢あるいは泥状便で、発熱、食欲不振、吐き気、腹痛、脱水などが見られる。主な治療法の一つとして抗生剤を投与するが、これらは広域の抗菌スペクトルを持つ薬剤であるために腸内の菌交代により、CDI患者の20-35%は一度目の抗菌薬投与では完治しない。また、そのうちの40-60%が症状の再燃が起きてしまい、根本的な治療には至らない。また、Centers for Disease Control and Preventionが発表した“ANTIBIOTIC RESISTANCE THREATS in the United States, 2019”において *C. difficile* は最も耐性化の危機レベルが高い病原菌の一つであるとされている。アメリカ国内において、毎年、43万人の罹患者および2万9千人以上の死者が出ており、年間15億ドルもの医療コストがかかっている。この問題を解決するために、*C. difficile* 特異的に抗菌作用を示す新規薬剤が強く望まれる。このような背景のもと、北里研究所において *Streptomyces* sp. OMR-59 株の培養液より単離されたルミナミシン (1) は *C. difficile* に対し、選択的かつ高い抗菌活性を示すため、新規 CDI 治療薬のリード化合物として期待できる。

2. 研究の目的

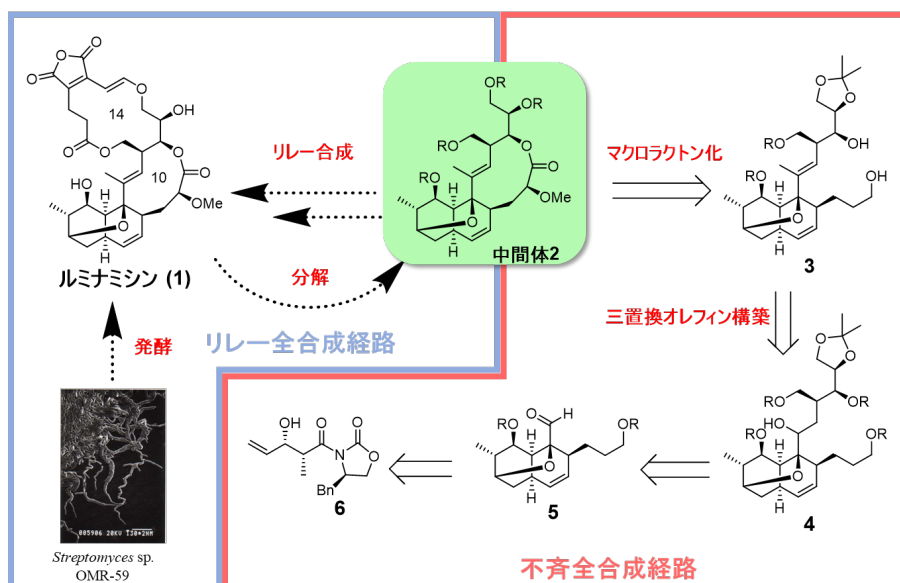
本研究では、1を基盤とした新規抗 *C. difficile* 薬の創製を目標にその合成研究を開始した。しかし、1は抗菌活性発現メカニズムが未解明である。さらに1は他の天然物にない無水マレイン酸共役エノールエーテルに加え、三環性酸素架橋シスデカリン骨格と三置換オレフィン含有マクロラクトンがそれぞれ縮環した極めて特異な構造を有しており、有機合成の点においても全合成は容易ではない。そこで北里研究所が有する発酵技術による天然物1の供給を利用することで効率的な1の不斉全合成経路確立を目的にその合成研究を推進した。さらに本研究成果を基盤に1が有する複雑な構造と特異な生物活性の相関が解明出来ると期待した。

3. 研究の方法

・ルミナミシン (1) の合成戦略

ルミナミシン(1)を全合成するにあたり、その構造的特徴は、次の三点である。すなわち、他の天然物に類を見ない無水マレイン酸に共役したエノールエーテルを含む14員環マクロラクトン、三置換オレフィンを含む10員環ラクトン、加えて多官能基化された酸素架橋含有シスデカリン骨格をもつ点である。

そこで、1の合成を達成するために、当研究所が有する微生物発酵技術を活かした効率的な合成経路を立案した (Scheme 1)。すなわち、ルミナミシン生産菌を大量培養することで1を取得したのち、分解反応によって鍵中間体2を合成する。一方、市



Scheme 1 ルミナミシンの合成計画

販化合物から全合成的に鍵中間体 **2** を合成する。そして各ルートから合成可能とした中間体 **2** から、**1** の全合成を目指すこととした。この微生物培養を利用した合成戦略をとることで、全合成的な量的供給が困難な **2** を比較的簡便に調製できることとなり、効率的かつ迅速な **1** の全合成達成が見込まれる。また、構造活性相関の解明を目指しているため全合成ルートと天然物の分解によるルートの双方から多様な誘導体合成が期待できる。

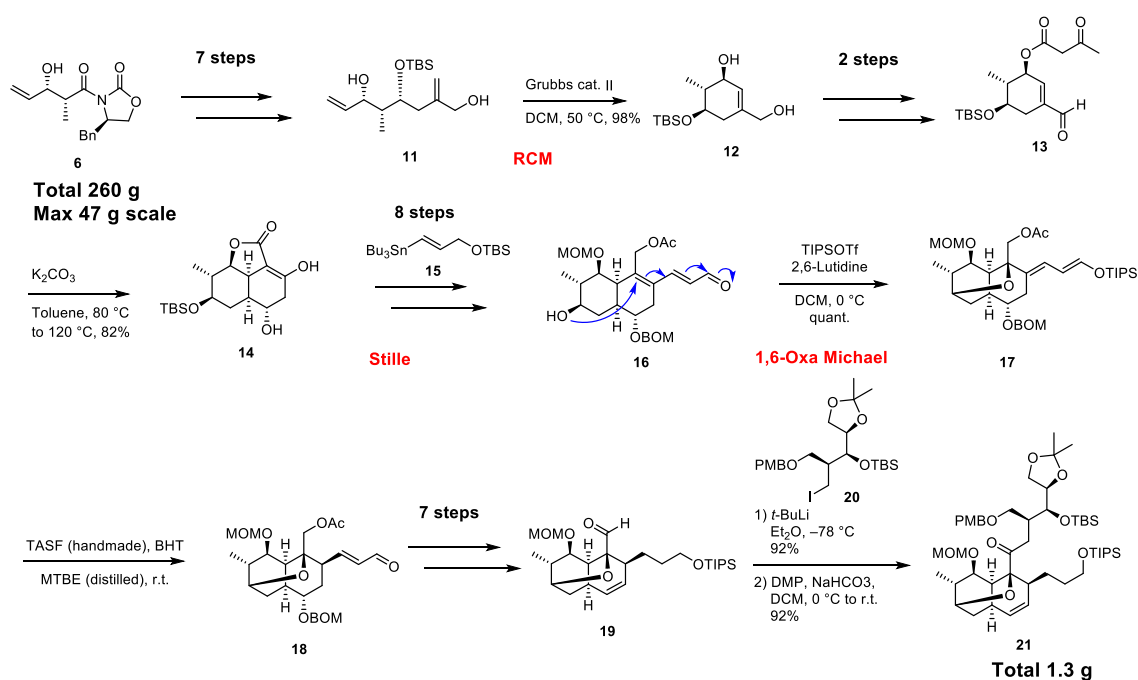
4. 研究成果

・中間体 **2** の合成

先述の合成戦略に基づいて **1** を全合成するにあたり、まずは中間体 **2** の全合成ルートの確立に着手した。**2** の合成を目指すにあたり課題となるのが、多官能基化されたシスデカリン部分と歪んだ酸素架橋部分を構築であり、合成序盤に架橋部分を構築すると後の分子の官能基化が困難となることが予想されるため、合成終盤に構築する戦略を立てた。

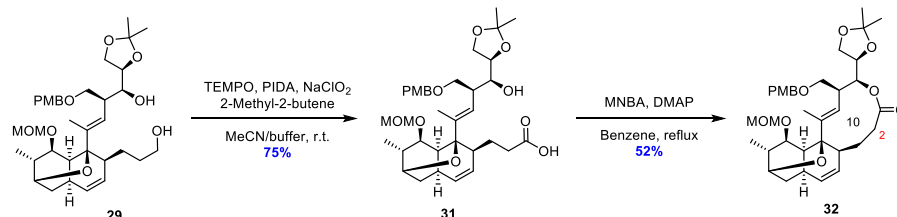
6 から **21** までの合成経路は当研究室で既に確立されていた。そこで、**21** から先の経路の合成検討を行う為に必要となる **21** を大量スケールで合成し、**21** の量的供給を行った (Scheme 2)。**6** を最大スケール 46 g 合計 260 g を出発物質として合成を開始した。**6** から 7 工程でビスアリールアルコール **11** としたのち、第二世代 Grubbs 触媒を用いて閉環メタセシス反応を行ったところ、シクロヘキセン体 **12** を 98% の良好な収率で取得出来た。続いて **12** から 2 工程でアシル体 **13** へと導いた。高温に不安定な **13** に対して塩基性条件で 80 °C で反応させて原料を速度論的に有利な状態へと導いた後に 120 °C に昇温することで、分子内マイケル付加に続いて、アルドール反応が進行した三環性化合物 **14** を 82% の良好な収率で得ることが出来た。**14** に対して Stille カップリングを含む 8 工程で側鎖を導入した共役アルデヒド体 **16** へと導いた。得られた **16** に対して鍵となる 1,6-oxa-Michael 反応による酸素架橋形成を行った。この反応は retro oxa-Michael 反応を抑制するため、ルイス酸として働きエノールの補足が可能であり、かつ C9 位の第二級水酸基と反応しない嵩高い TIPSOTf を用いることで酸素架橋体 **17** を定量的に与えた。次に、得られた **17** のシスデカリン骨格が歪んでいることを利用して、TASF を用いた TIPS 基の除去に伴う立体選択的プロトン化を行うことで **18** を与えた。さらに **18** から 7 工程を経ることでアルデヒド体 **19** へと導いた。そして、アルデヒド体 **19** と三連続不斉中心を有する **20** とのユニットカップリングを行った。**19** のネオペンチル位にあるアルデヒドは立体障害が大きく嵩高い活性種では反応しないため、嵩が小さく反応性の高いアルキルリチウム種を用いることでユニットカップリング体へと導き、続いて酸化をすることでケトン体 **21** を合計 1.3 g 得た。

得られた **21** を用いて、ルミナミシン(**1**)の全合成に向けて三置換オレフィンの構築及び 10 員環ラクトン構築を目指した検討を行うこととした。



Scheme 2 ユニットカップリング体 **21** の合成

次に、**21** にメチル基を 1,2-付加させたところ第 3 級アルコール体を得ることが出来、その後脱水反応で望みの三置換オレフィン体 **29** を得ることが出来た。**29** を TEMPO 酸化によって第一級水酸基選択的なアルデヒドへの酸化を行った後、ピニック酸化の条件に付すことでワンポット反応によってカルボン酸へと酸化させ、セコ酸 **31** を調製した。続いてマクロラクトン化を行った。種々検討の結果、高希釈溶媒での椎名マクロラクトン化の条件で望みの 10 員環の形成が進行し、10 員環ラクトン体 **32** を合成出来た (Scheme 3)。

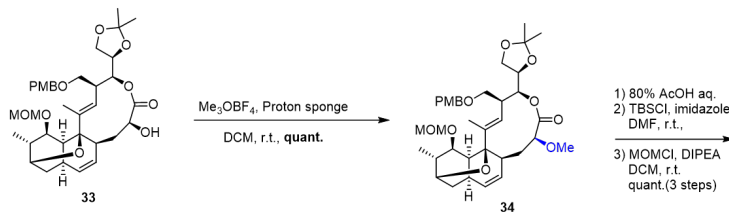


Scheme 3 マクロラクトン化による **32** の合成

続いて、**32** に対して C2 位の酸化を行った。エ

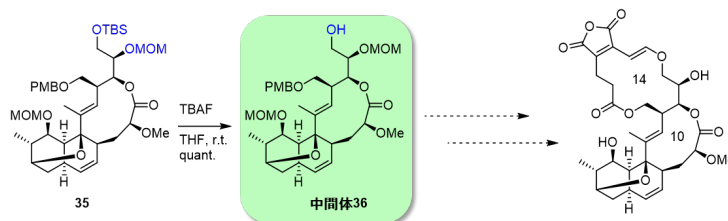
ノラートを経由したエステル α 位の酸化において高の小さい塩基である LiNEt_2 を用い、酸化剤として Davis 試薬を用いたところ目的とする OH 体が単一のジアステレオマーとして得られた。

その後、アルコール **33** に対して *O*-メチル化を行い **34** としたのち、アセトニド基を脱保護し、第一級水酸基を TBS 基、第二級水酸基を MOM 基で保護した後、TBS 基を除去した中間体 **36** の合成を達成した (Scheme 4)。



・ルミナミシンの分解反応

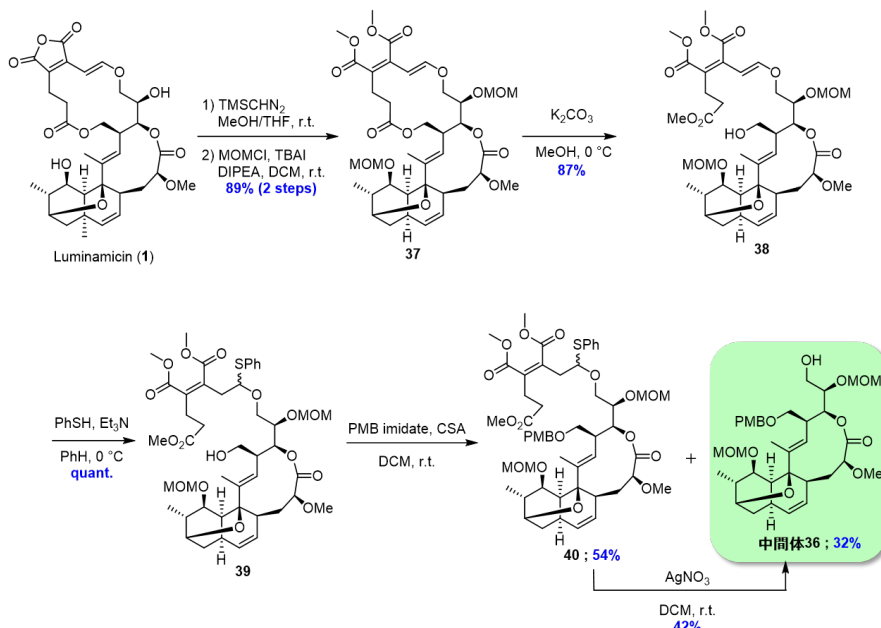
発酵により別途取得した天然物 Luminamicin **1** を用いて、**1** の無水マレイン酸共役エノールエーテル含有 14 員環マクロラクトン部位を開裂することで鍵中間体 **36** へと変換できる合成法の検討を行った。



Scheme 4 全合成経路における鍵中間体 **36** の合成

はじめに、不安定な無水マレイン酸部位に対し TMS diazomethane によるジメチルエステル化を行ったのち、単離生成を経ずに 2 つの水酸基を MOM 基によって保護を行うことで **37** とした (Scheme 5)。次に、14 員環マクロラクトン選択的な加溶媒分解を行い **38** を得た。その後、エノールエーテルを開裂するためチオフェノールをマイケル付加することで *S,O*-アセタール体 **39** とした。続いて、加溶媒分解で生じた第一級水酸基に対して

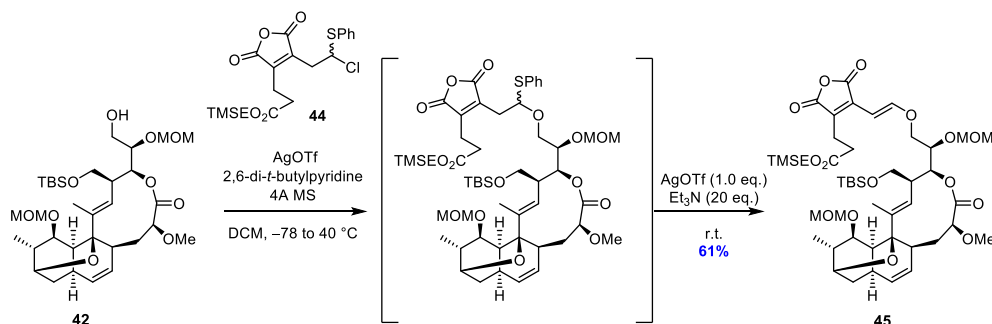
PMB 基での保護を行ったところ、目的とする **40** が得られるとともに *S,O*-アセタールの酸加水分解が進行した中間体 **36** も得られた。また **40** は硝酸銀で処理することで、*S,O*-アセタールの選択的な加水分解を行うことができ、**1** から中間体 **36** への合成経路確立に成功した。



Scheme 5 天然物の分解反応による鍵中間体 **36** の合成

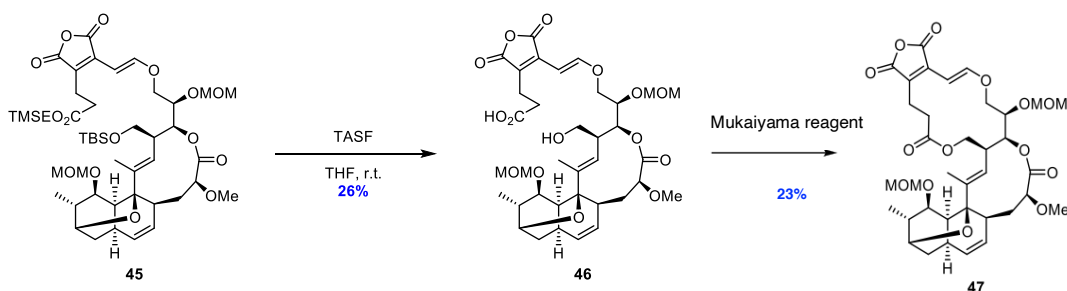
・無水マレイン酸共役エノールエーテル含有 14 員環マクロラクTONの構築検討

続いて、鍵中間体 **36** から無水マレイン酸共役エノールエーテル含有 14 員環マクロラクTONの構築を行った。鍵中間体 **36** の PMB 基を TBS 基へと保護基の交換を行い化合物 **42** を調製後、*S,O*-アセタール化と続く脱離反応によってエノールエーテルの形成を試みた(Scheme 6)。無水マレイン酸ユニット **44** との反応において、両基質の *S,O*-アセタール化後に AgOTf を追加することでスルフィドの脱離能を向上させ、Et₃N を塩基として用いることで E1cB 脱離を進行させて一挙にエノールエーテルが形成された **45** が 61%の収率で得られた。



Scheme 6 カップリング反応に続くワンポットエノールエーテル形成反応

次に TMSE 基および TBS 基を中性条件でシリル基の脱保護が行える TASF を用いた条件において 26%の低収率ながらも目的とするセコ酸 **46** を得た (Scheme 7)。さらに無水マレイン酸を有するセコ酸 **46** を用いてマクロラクTON化の検討を種々行った結果、向山試薬を用いたマクロラクTON化において低収率ながらも目的とするマクロラクTON体 **47** を得ることが出来た。最後に得られた **47** に対して塩酸ジオキサンを用いて MOM 基の除去を試みたところ、LC-UV 分析において変換率良く Luminamicin **1** が生成していることを確認出来たが、**1** のシリカゲルによる単離操作の際、化合物の分解が起こったため **1** の単離には至っていない。



Scheme 7 マクロラクTON化

・今後の課題

全合成経路においてシスデカリン構造に三置換オレフィン含有 10 員環ラクTONが縮環している鍵中間体 **36** の合成を達成した(Scheme 4)。また、微生物培養の二次代謝産物として得られる天然物 **1** の分解物 **36** を合成することでその量的供給を行った。さらに **36** から **1** の MOM 保護体である **47** まで合成する経路を確立し、最後の脱保護も首尾良く進行することを確認出来た。残された全合成の課題としては **47** の MOM 基の脱保護により得られる **1** の単離精製法を確立することである。また全合成における課題として、合成終盤の TMSE 基と TBS 基の脱保護と Mukaiyama reagent による 14 員環の構築反応の効率を向上させる必要がある。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 1件 / うちオープンアクセス 0件）

〔学会発表〕 計39件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小嶋透、君嶋葵、大原基義、安藤博康、松本厚子、岩月正人、渡邊善洋、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 抗嫌気性菌活性を有するLuminamicinのリレー全合成研究
3. 学会等名 第63回 日本薬学会 関東支部大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤博康、小嶋透、君嶋葵、大原基義、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 抗嫌気性菌活性を有するルミナミシンの全合成研究
3. 学会等名 第11回 北里化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 小嶋透、君嶋葵、大原基義、安藤博康、松本厚子、岩月正人、渡邊善洋、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 抗嫌気性活性を有するルミナミシンのリレー全合成研究
3. 学会等名 第11回 北里化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤博康、小嶋透、君嶋葵、大原基義、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 抗嫌気性菌活性を有するルミナミシンの全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会 第140年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 廣瀬友靖
2. 発表標題 大村天然物をターゲットとした効率的全合成と有用生物活性物質のリード探索
3. 学会等名 岩手医科大薬学部セミナー（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 大原基義、君嶋葵、安藤博康、廣瀬友靖、野中健一、松本厚子、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 抗嫌気性菌活性を有するルミナミシンのリレー全合成と構造活性相関研究
3. 学会等名 日本薬学会 第139回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 安藤博康、大原基義、君嶋葵、廣瀬友靖、金井田將裕、宮本岳洋、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 抗嫌気性菌活性を有するルミナミシンの全合成研究；10員環ラク톤の構築
3. 学会等名 日本薬学会 第139回年会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------