

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：32607

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2018～2019

課題番号：18H06112・19K21230

研究課題名(和文) 選択的抗嫌気性活性の解明を指向したエフロトマイシンの収束的不斉全合成

研究課題名(英文) Convergent Total Synthesis of Efrotomycin, a Potent Antianaerobic Product

研究代表者

池田 朱里 (Ikeda, Akari)

北里大学・感染制御科学府・特任助教

研究者番号：40825056

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：C.difficile感染症は重篤度の高い偽膜性大腸炎を引き起こす感染症であるが、その原因である嫌気性菌C.difficileに対する治療薬は不十分である。そのような背景の下、大村智記念研究所においてエフロトマイシンがC.difficileに対して有効であることが見出されたことから、本研究では多様な類縁体合成が可能なエフロトマイシンの収束的な合成経路の確立に着手した。4つに分割したエフロトマイシンの部分骨格を修飾することで効率的な類縁体が構築できると考え、各部分骨格の合成を開始した。現在までに、2つの部分骨格の合成を達成した。今後、本物質の全合成ルート確立と創薬研究の進行が期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エフロトマイシンの合成報告は1例あるが、その全合成経路は直線的であり、創薬研究に必要な類縁体の合成検討は難しい。本研究ではこの困難さを克服すべく、エフロトマイシンを4つの部分骨格に分割し、うち2つの骨格に共通する3置換オレフィン構造の効率的な構築法を確立することで、大幅な反応の効率化を実現した。これにより本全合成が達成された際には、エフロトマイシンの多様な類縁体を効率良く構築できる点において学術的な意義を有する。

さらに本研究は、抗菌活性に着目した研究に貢献できることから、抗C.difficile活性を有する化合物の創薬研究として大きな社会的意義を持つ。

研究成果の概要(英文)：Clostridium difficile (CD) is anaerobic bacteria that cause a more severe form of antibiotic associated diarrhea. However, only a few pharmaceuticals are effective against the bacteria. During the course of screening for metabolites, Efrotomycin was discovered as an anti-CD lead compound. Due to its selective and high activity for CD, we thus became interested to total synthesis of Efrotomycin.

We planned a convergent synthesis of Efrotomycin to provide clarification of detailed structure-activity relationships. So far, we have achieved the convenience method for constructing three-substituted olefin as a key structure, and synthesis of an essential intermediate in the total synthesis of efrotomycin.

研究分野：天然物合成化学

キーワード：全合成 エフロトマイシン efrotomycin C.difficile感染症 収束的 嫌気性菌 鎖状天然物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

## 1. 研究開始当初の背景

抗菌薬関連性腸炎・下痢症は、院内感染の中でも発生頻度の高い疾患であり、中でも偽膜性大腸炎は重篤度が高い。本疾患は、広域スペクトルを有する抗菌剤の長期使用による腸内の菌交代症に起因しており、特に偏性嫌気性菌である *C.difficile* が原因菌の 20% を占める。この菌種は多くの抗菌薬に耐性を獲得しており、バンコマイシンを含む有用な治療薬が少ないことが問題となっている。このような背景のもと、大村智記念研究所にて実施した抗嫌気性菌活性スクリーニングにおいて、鎖状天然物であるエフロトマイシン (1) が *C.difficile* に対して高い選択性かつ抗菌活性を示した (図 1)。このことから、1 は狭域スペクトルを有する新たな抗菌薬のリー

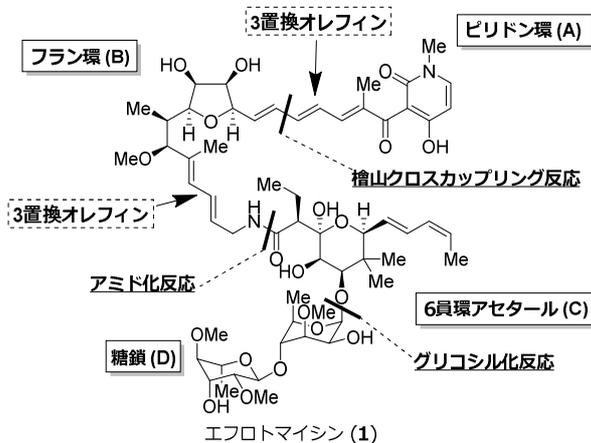


図1. エフロトマイシン (1) の構造的特徴

ード化合物に成り得ると期待できる。しかしながら、1 の全合成は過去に 1 例しか報告がなく、またその合成経路は直線的であったことから、選択的な抗菌活性の構造活性相関解析に要する多様な誘導体の創出には不向きであった。そこで、母骨格からの変換にも対応できる幅広い誘導体の構築を可能にする簡便な合成経路の開発が必要とされた。

## 2. 研究の目的

本研究では、エフロトマイシン (1) をリード化合物として、*C.difficile* 選択的な新規抗菌薬の創製を最終目的に設定した。また本目的を達成するために、本研究課題にて 1 を標的とした多様な誘導体合成が可能な全合成経路の確立を計画した。

## 3. 研究の方法

エフロトマイシン (1) の全合成経路確立を進めるにあたり、1 の特徴的な構造に着目した (図 1)。鎖状天然物である 1 は、4 つの特徴的な部分骨格であるピリドン環フラグメント (A)、フラン環フラグメント (B)、6 員環アセタールフラグメント (C) および糖鎖フラグメント (D) に分割できる。すなわち報告者は、4 つの各部分骨格を合成した後に、合成終盤にて順次連結するような収束的な合成経路を確立することで、多様な誘導体創出が可能であると考えた。また報告者は、4 つのうち A および B の部分骨格に共通する鍵構造である 3 置換オレフィンに着目した。本鍵構造を幾何選択的に効率良く合成することが、本研究課題にて掲げた収束的全合成経路確立において重要であると考えた。

## 4. 研究成果

### (1) 研究内容の進捗

申請者はまず共通構造である 3 置換オレフィンの簡便な構築法の開発に着手することとした。特に反応工程数の短縮を目指し、反応中間体の単離を必要としないタンデム型反応による構築に着目した。すなわち、反応性の高い金属活性種を反応系中にて調製し、そのままカップリング反応を行うことで、目的とする 3 置換オレフィンが簡便に構築できると考えた。

まず初めに、TBS 基で保護したプロパルギルアルコール (2) に対するカルボメタル化を検討することとした (Table 1)。Entry 1 に示す Al を用いた根岸カルボメタル化反応の条件を検討したが、反応は全く進行せず、原料回収のみとなった。次に Mg を活性種とする条件の検討に着手した。THF 溶媒中、MeMgBr と CuI から調製したアート錯体を用いた条件では、活性中間体 (3) が原料とカルボメタル化を引き起こし、ポリマー体のみを与えた (Table 1, Entry 2)。そこで、溶媒を Toluene へと変更したところ、先の問題点であったポリマー化の抑制に成功したが、活性中間体 (3) のプロトン化のみが進行した (Table 1, Entry 3)。そこで、溶媒を THF と Toluene の混溶媒へと変更したところ、速やかにカルボメタル化が進行し、そのまま I<sub>2</sub> により 3 をトラップすることで、目的とする Vinyl iodide (4) を高収率で与えた (Table 1, Entry 4)。以上のことから、目的の活性中間体 (3) を調製する条件を見出すことに成功した。

続いて、活性中間体 (3) を用いて目的とする 3 置換オレフィンの構築のためのカップリング反応の検討に着手することにした。先の最適条件により調製した 3 を単離精製することなく、

Table 1. カルボメタル化の検討

Entry	Conditions	Result
1	Me <sub>3</sub> Al, ZrCp <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub> , DCM, rt, 14 h	No Reaction
2	MeMgBr, CuI, THF, -50 °C to rt, 30 min	Polymerization of 3
3	MeMgBr, CuI, Toluene, -50 °C to rt, 30 min	Protodemetalation
4	MeMgBr, CuI, Toluene/THF, -50 °C to -15 °C, 5 min	4, quant.

**Pd** 触媒存在下にて **A** フラグメントに相当する **Vinyl halide (5)** との熊田クロスカップリング反応に伏した (図 2)。溶媒、温度などの検討を行った結果、熊田クロスカップリング反応はほぼ定量的に進行し、目的とする **3** 置換オレフィン (**6**) を与えた。また **6** の幾何選択性は、図に示すプロトンの **NOE** によって確認している。

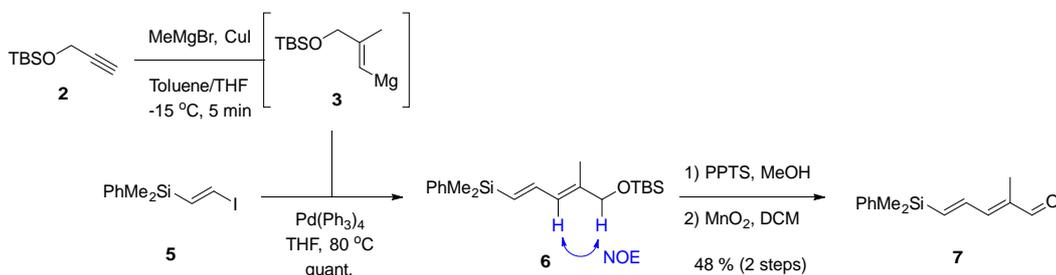


図2. Aフラグメントの3置換オレフィンの簡便な構築

今後、別途調製したピリドン環とのアルキル化と、生じた水酸基の酸化反応を行うことで、**A** フラグメントを達成できると考える。

また、先の手法は共通鍵構造を持つ **B** フラグメントにも適応できると考え、検討を行うこととした (図 3)。その結果、先の反応条件をそのままに、別途調製した **Vinyl halide (8)** に変更するだけで、目的の **3** 置換オレフィン (**9**) が高収率で合成できた。また、**9** の幾何選択性は、図 3 に示すプロトンの **NOE** によって確認している。今後、マーシャルプロパルギル化反応を用いたアンチ選択的な求核付加反応などを経ることで、**B** フラグメントの合成についても達成できると考える。

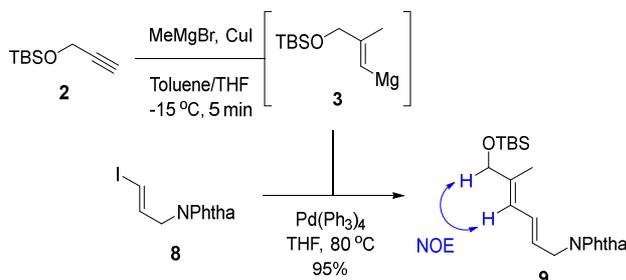


図3. Bフラグメントの3置換オレフィンの構築

一方、**C** フラグメントが有する多くの立体は、水酸基およびエポキシドを利用することで選択的に構築できると考えた。出発物質である **D-Pantolactone (10)** からアルデヒド (**11**) を合成し、続いて **Julia** オレフィンカップリング反応にてオレフィンを構築しようと試みた (図 4)。しかしながら、本反応は全く進行しなかったことから、**Wittig** 反応による炭素鎖の伸長を行うことで **12** を合成した。得られたアルデヒドに対して **Evans Aldol** 反応を用いて **2** つの立体化学を制御しながら増炭し、続いてエポキシ化を行うことで立体選択的な **13** の合成を達成した。続いて、エポキシ化で用いた不斉補助基オキサリジノンの除去に伴いカルボキシラートを発生させ、分子内のエポキシドに対して付加することで  $\gamma$ -ラク톤を構築し、ラクトン環上の水酸基を酸化した。さらに、**TIPS** 基の脱保護を行うことで、**6** 員環アセタールの構築を達成した。しかしながら、ラクトン環上の水酸基を酸化する際に速やかなエノール型への異性化が観測され、アセタール環形成時の **Et** 基のジアステレオ比は **2.2:1** に低下する問題が生じたことから、再度異性化が必要であると考えている。

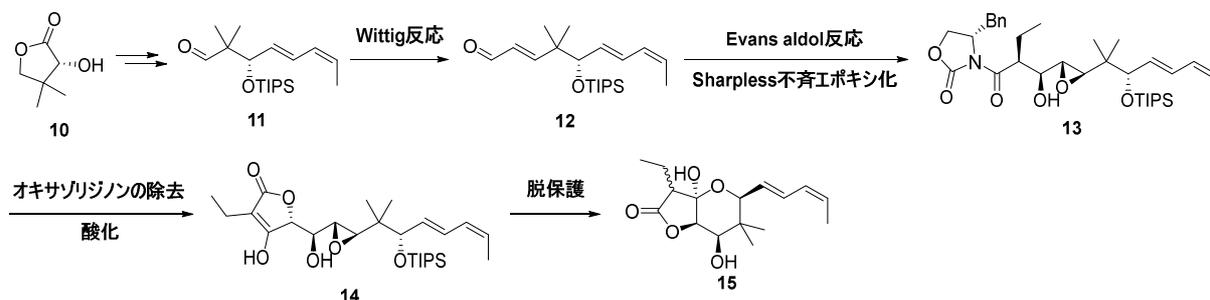


図4. 6員環アセタール (C)フラグメントの合成

## (2) まとめ

報告者は、本研究標的である鎖状天然物エフロトマイシン (**1**) の *C.difficile* 選択的な抗菌活性に着目し、その構造活性相関解析を視野に入れた幅広い誘導体合成を可能とする **1** の収束的な全合成経路の確立を立案した。**1** を **4** つの部分骨格に分割し、うち **2** つの部分骨格に共通する **3** 置換オレフィンの簡便な構築を計画した。実際、反応性の高い **Mg** 中間体を反応系中にて調製し、相当する **vinyl halide** との熊田クロスカップリング反応を行うことで、目的の幾何選択性を持った **3** 置換オレフィンの構築に成功した。続けて、**A**、**B** および **C** フラグメントの合成を検討した結果、特に **C** フラグメントについてはその合成を達成した。

今後、各部分骨格の合成を進めた後に順次連結することで本研究課題である **1** の収束的な全合成経路の確立を達成し、本知見を用いることで *C.difficile* 選択的な新規抗菌薬が創製できると期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計9件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大原基義、池田朱里、中嶋明日香、野口吉彦、渡邊彰人、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エフロトマイシンの全合成研究
3. 学会等名 日本薬学会第140回年会（京都）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 米澤穂波、池田朱里、高橋亮、廣瀬友靖、岩月正人、大村智、砂塚敏明、上原至雅、西谷直之
2. 発表標題 イベルメクチン結合タンパク質（IvBP）はdruggableなWnt/ $\beta$ -catenin経路仲介因子である
3. 学会等名 日本薬学会第140回年会（京都）
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 大原基義、池田朱里、中嶋明日香、野口吉彦、渡邊彰人、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エフロトマイシンの全合成研究
3. 学会等名 2019年度第11回北里化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 高橋亮、池田朱里、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 エバーメクチンの新作用探索を指向したケミカルツールの合成研究
3. 学会等名 2019年度第11回北里化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富山昂大、池田朱里、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 インフルエンザ重症化予防薬創製を指向したビルビン酸脱水素酵素キナーゼ4 (PDK4) 阻害剤の合成研究
3. 学会等名 2019年度第11回北里化学シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 富山昂大、池田朱里、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 インフルエンザ重症化予防薬創製を指向したビルビン酸脱水素酵素キナーゼ4 (PDK4) 阻害剤の合成研究
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 大原基義、池田朱里、中嶋明日香、野口吉彦、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エフロトマイシンの全合成研究
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 高橋亮、池田朱里、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明
2. 発表標題 エバ-メクチンの新作用探索を指向したケミカルツールの合成研究
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 池田朱里
2. 発表標題 疎水性導入のための新規ツール Trifluoromethyl- 6-tetrafluorosulfanyl (CF3SF4) Group
3. 学会等名 第9回フッ素化学若手の会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

ホームページ : <a href="http://seibutyuuki.sakura.ne.jp/">http://seibutyuuki.sakura.ne.jp/</a>
--

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