

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 18 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究 (C)

研究期間：2009～2011

課題番号：21590020

研究課題名（和文）特異な構造を有する多環式含窒素生物活性天然物の新規分子骨格構築法の開発

研究課題名（英文）Total synthesis of novel polycyclic bioactive indole alkaloids

研究代表者

砂塚 敏明 (SUNAZUKA TOSHIAKI)

北里大学・大学院感染制御科学府・教授

研究者番号：30226592

研究成果の概要（和文）：

細胞周期障害物質であるネオキサリンは、トリプトファンとヒスチジン由来のインドールアルカロイドであり、分子内に特異なスピロアミナル構造と4級炭素に結合したイソプレニル基が存在する複雑で特異な構造を有している。これら特徴的な構造を立体選択的に構築するにあたり、フロインドリンの不斉合成の応用、スピロアミナル骨格の構築という鍵反応を考案した。すなわち、まずマジンドリンの合成で確立したフロインドリンより、リバースプレニル基を導入し、次にアミナルをルイス酸によるトランスアミネーションによりジアミナルとし、更に酸化してニトロ経路でインドールのスピロアミナル構造の構築法を初めて開発した。

一方、ヒドロキシアパリシンは、薬剤耐性マラリア株に対し、優れた抗マラリア活性及び選択性を有するインドールアルカロイドである。しかしながら本化合物は天然からの量的供給が困難であることから、詳細な活性評価が行われていない。そこでヒドロキシアパリシン骨格を有する新規マラリア治療薬の開発を目的とし、大量合成可能な効率的かつ簡便な合成ルートの確立を行なった。すなわち、側鎖部分は、不斉 Michel 反応により構築し、さらにインドールの C-2 へのアルキル化、さらに分子内 Mannich 反応により8員環を構築する方法を確立し、効率的なヒドロキシアパリシンの初の全合成を達成した。また、全合成過程で得られた中間体や誘導体に関して抗マラリア活性を評価する事により、構造活性相関を明らかにした。

研究成果の概要（英文）：

With a focus on the drug discovery process, the Kitasato Institute is using cutting-edge, unique screening techniques to discover useful bioactive natural products from microbial metabolites. These novel natural products have distinctive structures and attractive bioactivities, such as novel polycyclic indole alkaloids, neoxaline and hydroxyapparicine.

Neoxaline was isolated from *Aspergillus japonicus* Fg-551 in our institute. It is a member of a novel class of biologically active indole alkaloids characterized by a unique indoline spiroaminal framework. It binds to tubulin, resulting in inhibition of tubulin polymerization. We have developed a concise stereoselective synthesis of the indoline spiroaminal framework, by transamination from furoindoline to diaminal, followed by tungstate-catalyzed oxidation to the nitrene, which easily cyclizes to the indoline spiroaminal framework of neoxaline.

Hydroxyapparicine, from our natural product library, was recently discovered to be a potent antimalarial agent. It is an indole alkaloid consisting of a 6, 8 ring system that includes an unstable

Pseude-aminal skeleton. We have developed the first total synthesis of hydroxyapparicine using a strategy featuring the construction of 6, 8 ring systems containing the *Pseude*-aminal moiety using a Staudinger/Aza-wittig/intramolecular alkylation/intramolecular Mannich cascade reaction, along with two stereo-centers, produced by diastereoselective Michael reaction and diastereoselective alkylation of indole.

交付決定額

(金額単位：円)

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|-----------|-----------|-----------|
| 2009年度 | 1,900,000 | 570,000 | 2,470,000 |
| 2010年度 | 1,700,000 | 510,000 | 2,210,000 |
| 2011年度 | 100,000 | 30,000 | 130,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 3,700,000 | 1,110,000 | 4,810,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・化学系薬学

キーワード：

天然物・インドール・分子骨格構築・生物活性・全合成・特異構造・アルカロイド

1. 研究開始当初の背景

これまで北里研究所の大村らは、ユニークなスクリーニングを駆使して微生物代謝産物より有用な生物活性物質を見出す研究を行っており、最近新規なインドールアルカロイドでありますネオキサリン、ヒドロキシアパリシンが発見された。

2. 研究の目的

北里研究所において、微生物代謝産物から発見されたネオキサリン、ヒドロキシアパリシンは、特異な構造を有したインドールアルカロイド(多環式含窒素化合物)であり、ネオキサリンはインドールのスピロアミナル構造を、ヒドロキシアパリシンはインドール環にさらに8、6員環を有している。そして、ネオキサリンは特異的に細胞周期阻害作用を示し、ヒドロキシアパリシンは強い抗マラリア活性を有しているが、いずれも両天然物とも微生物による生産は極めて微量である。そこで、申請者は、これら2化合物を標的化合物として、効率的で実用的なグラムスケール作り可能な新規分子骨格構築法を開発するとともに、合成した物を用い詳細な生物活性評価を行なう。更には、様々な誘導体を合成し、構造活性関連の解明を行ない、創薬の展開において

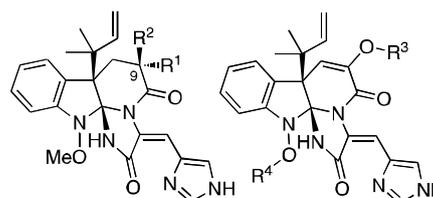
有効な多くの知見を得ることを目的とする。最終目標は、ガンやリウマチ、さらにはマラリアの新規治療薬の創製を行う。

3. 研究の方法

有機合成化学的手法のより、効率よく合成する。

4. 研究成果

ネオキサリンは、1979年に我々の研究グループによって真菌 *Aspergillus japonicus* Fg-551 の培養液より単離されたインドールアルカロイドであり、チューブリン重合阻害による抗がん活性を有する(**Figure 1**)。ネオキサリンは、インドリンスピロアミナル、*E*-デヒドロヒスチジン、橋頭位の4級炭素に連結したかさ高いリバースプレニル基を併せ持った特異な構造を有している。



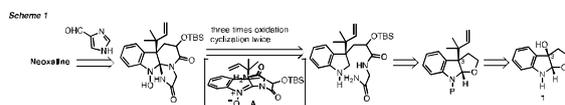
Neoxalline: R¹ = OH, R² = H
 9-*epi*-Neoxalline: R¹ = H, R² = OH
 Glandicoline B: R³ = H, R⁴ = H
 Meleagrins A: R³ = H, R⁴ = Me
 Oxalline: R³ = Me, R⁴ = Me

Figure 1: Neoxalline family

これまでにネオキサリンの生合成関連天然物の全合成および合成研究が数例報告されているが、インドリンスピロアミナルを持つ類縁体の全合成はおろか、インドリンスピロアミナル骨格の構築は我々の1例に限られている。我々は、インドリンスピロアミナル化合物をリードとした新規薬剤開発の可能性を探ることを目的に、化学的にも生物活性的にも興味深いインドリンスピロアミナル骨格を有するネオキサリン類の全合成研究に取り組んだ。その結果、最適化した新規合成経路でネオキサリンを構成するすべての官能基を有するインドリンスピロアミナル体を合成出来、ネオキサリンの全合成が目前となっている。

ネオキサリンを合成する上で、橋頭位へのリバースプレニル基の立体選択的導入および、インドリンスピロアミナル骨格構築が鍵となる(Scheme 1)。

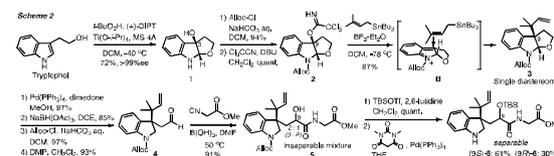
我々の研究グループは、市販のトリプトファンから、香月・シャープレス不斉エポキシ化条件を利用した 3a-ヒドロキシフロインドリン **1** の立体選択的合成を報告しており、⁴⁾



2位の不斉を利用して3位へ立体選択的にアシル基を導入している。⁵⁾ 本手法を用いれば、3位に立体選択的にリバースプレニル基を導入できると考えた。インドリンスピロアミナル骨格は、適した位置にアミノ基を持つインドリンを酸化条件に伏すことにより、三度の酸化と二度の環化(イミンへの酸化、ニトロンへの酸化、6員環環化、環状ニトロンへの酸化、5員環環化)により構築できると考えた。本環化反応は、遷移状態Aを取った後NH₂が環化しやすいconvex面より付加して立体選択的に進行し、望む立体配置でインドリンスピロアミナル骨格を構築できると予想した。

<3位への立体選択的リバースプレニル基の導入>

フロインドリン **1** の第2級アミンを Alloc 基で保護し、ヒドロキシル基を高い脱離能を示すトリクロロイミデート **2** へ変換し、CH₂Cl₂ 中-78 °C、BF₃•OEt₂ 存在下プレニルトリブチルすずと作用させることにより、**B** の遷移状態を経て、完全に立体を制御して3位にリバースプレニル基が導入されたフロインドリン **3** を高収率で得ることが出来た



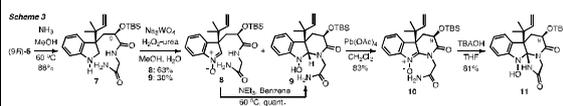
(Scheme 2)。

続いて、各種官能基変換を経てアルデヒド体 **4** へ導いた。Meredyy らの手法を参考に、イソシアノアセテートを DMF 中ボロン酸存在下アルデヒド **4** へ付加させたところ、望む α -ヒドロキシアミド体 **5** が高収率で、2:1 のジアステレオ混合物として得られた。生成物の水酸基を TBS 基で保護し、Alloc 基を除去したところでジアステレオマーをシリカゲルクロマトグラフィーにより分離出来た。

<インドリンスピロアミナル骨格の構築>

次にインドリンスピロアミナル骨格構築を検討した(Scheme 3)。

単離した 9*R*-エステル体 **6** をメタノール中ア

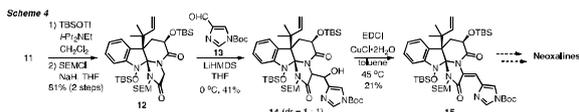


ンモニアで処理してアミド体 **7** へと導き、過酸化水素・尿素付加体とタングステン酸ナトリウムを用いて酸化を行ったところ、ニトロン **8** とニトロンが環化したジアミナル体 **9** がそれぞれ 63%、30%収率で得られた。ニトロン体 **8** は、ベンゼン中 NEt₃ 存在下加熱することにより、定量的にジアミナル体 **9** へ導いた。次に、得られたジアミナル体 **9** を四酢酸鉛によりニトロン **10** へ酸化し、TBAOH で処理することにより望むインドリンスピロアミナル体 **11** の立体選択的な構築法を確立できた。次に、9位のジアステレオマーである(9*S*)-**6** を用いてインドリンスピロアミナルの構築を検討した。9位ジアステレオ

マーも先と同様の経路で環化ニトロロン体 (9*S*)-**10** まで遜色なく導いた。ところが、最後の環化が進行せずインドリンスピロアミナル体は得られなかった。本現象については討論会にて詳しく説明する。

<イミダゾールユニットの導入>

次に α 位へのイミダゾールユニットの導入を検討した (Scheme 4)。



様々な条件を検討したが、**11** のヒドロキシル基とアミド NH の酸性度が高く、グリシンユニットの α 位の脱プロトン化が起こらなかった。そこで、**11** の両官能基を保護することとした。種々条件検討の結果、水酸基に TBS 基、アミド基に SEM 基を導入し、本基質を用いて別途調製したイミダゾールを有するアルデヒド **13** とのアルドール反応を検討した。その結果、LiHMDS を塩基に用いた時、本反応が進行して 1:1 のジアステレオ混合物として付加体 **14** を 41% 収率で得ることが出来た。付加体 **14** を EDCI と $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ を用いて脱水したところ、単一の幾何異性体としてデヒドロヒスチジン **15** を得ることが出来た。今後は、脱保護、メチルエーテル化を検討し、ネオキサリン類の初の全合成を達成する。

(±)-(15*S**,16*S**)-及び(±)-(15*S**,16*R**)-ヒドロキシアパリシンの合成並びに相対立体構造の決定

市販の化合物から導いたイミドに対し、クロトン酸チオエステルを用いた Michael 付加を行い、中程度の収率ながら α -付加体を 4 種のジアステレオ混合物として得た。得られた α -付加体の官能基変換を行い、得られた(±)-アルデヒドに対してインドールの求核付加、続く酸化により(±)-ケトインドールを導いた後、MeLi を用いた立体選択的 1,2-付加による四級炭素の構築を行った。続いて、3-ニトロピリジン基の導入を行い、カスケード反応前

駆体へと導いた。最後に考案したカスケード反応を行い、提唱された(±)-(15*S**,16*S**)-ヒドロキシアパリシンを得る事に成功した。なお合成したヒドロキシアパリシンの相対立体構造は NOE、ROESY 相関により提唱構造と同様であることを確認した。しかしながら得られたヒドロキシアパリシンの機器データは天然物と一致しなかった。

そこでヒドロキシアパリシンの真の相対立体構造を確認するため、ジアステレオマーである(±)-(15*S**,16*R**)-ヒドロキシアパリシンの合成を行った。先に合成した(±)-アルデヒドより調製される(±)-メチルケトンに対し、*N*-TBSOM インドールを用いた立体選択的 1,2-付加反応により、カスケード反応前駆体を高収率且つ単一のジアステレオマーとして得た。次いで全ての保護基を脱保護した後、3-ニトロピリジン基を導入し、カスケード反応前駆体に導いた。最後にカスケード反応を行い、(±)-(15*S**,16*R**)-ヒドロキシアパリシンの初の全合成を達成した。得られたヒドロキシアパリシンは NOE 相関により相対立体配置を(15*S**,16*R**)と決定し、天然物と機器データが一致することを確認した。以上により、これまで合成が達成されていなかったヒドロキシアパリシンの全合成ルートを確立し、2 種のジアステレオマーの合成を達成した。更に天然由来ヒドロキシアパリシンの提唱された相対立体配置(15*S**,16*S**)を訂正し、真の相対立体配置が(15*S**,16*R**)であることを明らかにした。

(+)-(15*S*,16*R*)-ヒドロキシアパリシンの不斉全合成並びに絶対立体構造の決定

市販の乳酸メチルより得られたケトエステルに対して、基質の不斉点を利用した分子内不斉転写型マイケル付加により、光学活性 3 置換ブチロラク톤を高収率且つ単一のジ

アステレオマーとして得ることに成功した。次いで3置換ブチロラク톤の官能基変換を経て、光学活性メチルケトン (97%ee) を合成した。続いてメチルケトンに対し、*N*-TBSOM インドールを用いた立体選択的1,2-付加反応により、カスケード反応前駆体を高収率且つ単一のジアステレオマーとして得た。得られた1,2-付加体はキラル HPLC 分析により光学純度を 97%ee であることを確認した。先と同様に、3-ニトロピリジン基の導入し、カスケード反応前駆体を得た後、最後にカスケード反応の条件に伏すことで、(+)-(15*S*,16*R*)-ヒドロキシアパリシンの初の不斉全合成を達成した。得られた(+)-(15*S*,16*R*)-ヒドロキシアパリシンは天然物のそれと機器データが一致することを確認した。更に NOE 相関を確認し、天然物の絶対立体構造を(15*S*,16*R*)と決定した。

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1件)

1) The first total synthesis and reassignment of the relative stereochemistry of 16-hydroxy-16,22-dihydroapparicine"

Noguchi, Y.; Hirose, T.; Furuya, Y.; Ishiyama, A.; Otoguro, K.; Omura, S.; Sunazuka, T.

Tetrahedron Lett. **2012**, *53* (14), pp.1802-1807.

DOI:10.1016/j.tetlet.2012.01.110

[学会発表] (計3件)

1) 招待講演 "Total synthesis of novel polycyclic bioactive indole alkaloid"
oSunazuka, T.

12th International Conference on the Chemistry of Antibiotics and other Bioactive, Berlin (Germany) 2011-09-11~2011-09-14

2) 招待講演 "Total synthesis of novel polycyclic bioactive indole alkaloids"
oSunazuka, T.

14th Asian Chemical Congress 2011 (14 ACC), Bangkok (Thailand) 2011-09-05~

2011-09-08

3) 招待講演 "Total Synthesis of Novel Polycyclic Bioactive Indole Alkaloids"

oSunazuka, T.

The 5th International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (China) 2010-11-9~2010-11-12

[図書] (計1件)

"微生物由来生物活性天然物の合成と創薬への展開"

砂塚敏明

化学と工業 **2011**, *62* pp.621-627.

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況 (計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

[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

砂塚 敏明 (SUNAZUKA TOSHIAKI)

北里大学・大学院感染制御科学府・教授

研究者番号: 30226592

(2) 研究分担者

()

研究者番号:

(3) 連携研究者

()

研究者番号：