

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 13 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23310156

研究課題名(和文)天然物類似低分子群の迅速合成・構造多様化と細胞機能制御

研究課題名(英文) Concise synthesis and structural diversification of natural products for modulation of cellular functions

研究代表者

大栗 博毅 (Oguri, Hiroki)

北海道大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：80311546

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,900,000円、(間接経費) 4,470,000円

研究成果の概要(和文)：天然物ならではの優れた生体制御機能を合成化学的に拡張するアプローチを展開する。抗マラリア剤アルテミシニン、インドールアルカロイドを構造モチーフとして、三次元構造を形作る骨格や立体化学、活性発現に重要な官能基を系統的に改変する“骨格多様化合成”を追求する。複雑で高度に官能化された天然物の構造を簡略化することなく、構造モチーフを多様化して系統的に構築する化学合成プロセスを開発する。

研究成果の概要(英文)：This project aims to explore synthetic approach capable of expanding biological functions of natural products focusing on anti-malarial artemisinin and indole alkaloids. We are developing concise and divergent synthetic processes generating unprecedented numbers of scaffold variations with systematic diversifications of skeletal, stereochemical and functional group properties without structural simplification of the targeted natural products bearing densely functionalized multicyclic core structures.

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：生物分子科学・ケミカルバイオロジー

キーワード：多様性指向有機合成 骨格多様化合成 元素置換戦略 インドールアルカロイド アルテミシニン マラリア 合成模倣 ジヒドロピリジン

## 1. 研究開始当初の背景

(1) マラリアの特効薬であるアルテミシニン (1) は、活性発現に重要なペルオキシドと7つの不斉炭素がセスキテルペン骨格に組み込まれた複雑な四環性構造を持つ。アルテミシニン本体を標的とした多段階化学合成法 (代表例 A. M. Avery *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 974.) の効率は実用的と言い難く、アルテミシニンの供給は植物からの抽出に依存している。また、アルテミシニンは脂溶性が高いので、実際のマラリア治療には、水溶性を改善した化学合成誘導体アルテスネート等が活用されている。筆者らはアルテミシニンをモチーフとし、骨格と立体化学を系統的に改変した三環性骨格を構築した (H. Oguri *et al.* *Org. Lett.* **2009**, *11*, 601.)。エンドペルオキシドを導入した四環性アナログ群を迅速に合成し、モチーフとしたアルテミシニンよりも優れた抗トリパノソーマ活性 (アフリカ睡眠病) を発現するアナログを数種類見出した (H. Oguri *et al.* *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7096. 北里大学と共同研究)。しかし一方で、構造を簡略化したアナログ群の抗マラリア活性は、アルテミシニンに遠く及ばない結果にとどまっていた。

(2) テルペンインドールアルカロイドはその分子構造と生理活性の魅力から、多くの全合成研究が展開されてきた。これまでの合成研究では、標的とした単一のアルカロイド骨格を選択的に構築するためテーラーメイドな化学合成ルートを開発するのが一般的であった。一方、ニチニチソウなどが産生する多環性アルカロイド群では、共通の仮想生合成中間体から、多環式骨格が大きく異なる複数の天然物が構築される二次代謝経路が提唱されていた。

## 2. 研究の目的

生体機能を制御する低分子リガンドのエッセンスが凝縮された天然物を構造モチーフとし、構造の複雑性と多様性を合理的に獲得する合成化学的アプローチを追求する。分子の造形を規定する骨格や立体化学、活性発現に重要な官能基を柔軟に改変可能な短工程合成プロセスの開発を主目的とする。本研究では、(1) 抗マラリア剤アルテミシニン、(2) 多環性インドールアルカロイドを取り上げる。複雑で高度に官能化された天然物の構造を簡略化することなく“骨格多様化合成”の具現化と体系化に取り組む。多環式骨格に複数の官能基をそれぞれ固有の空間配置で提示した分子群を迅速 (5-9 工程程度) に構築する。植物や菌類の化合物群生産ラインを模倣しつつ、天然物を合理的に改変した生理活性分子群を現実的なコストで創造する。有機合成化学を駆使して、副作用を低減した医薬品の開発に貢献する。

## 3. 研究の方法

## (1) アザーアルテミシニンの設計と合成

アルテミシニン (1) の構成要素を簡略化せずに、天然物の骨格へ窒素官能基や非天然型置換基 ( $R^1$ - $R^3$ ) を導入した 6-アザアルテミシニン群を設計した (図 1)。特に骨格への窒素導入により、①構造多様化が可能で柔軟な迅速合成 (3-5 工程)、②水溶性・薬物動態の改善、③ハイブリッド分子群の創製、を実現する革新的な合成プロセスを開発する。

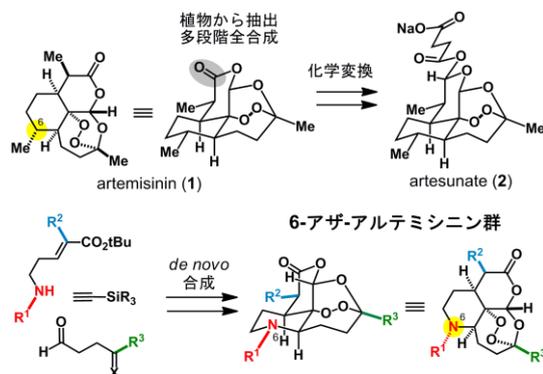


図 1 アザーアルテミシニンの合成計画

## (2) アルカロイド群の骨格多様化合成

一般に天然物の全合成では、単一の標的分子の骨格を選択的に構築するために最適な合成ルートを開発する。一方、本研究で着目したアルカロイド群の生合成では、共通の鍵中間体 (3) から三系統の骨格が構築されることが推定されている (図 2)。不安定な 3 を内包して速度論的に安定化し、環化の位置・立体・エンナンチオ選択性を制御する生合成酵素群の関与が想定されている。

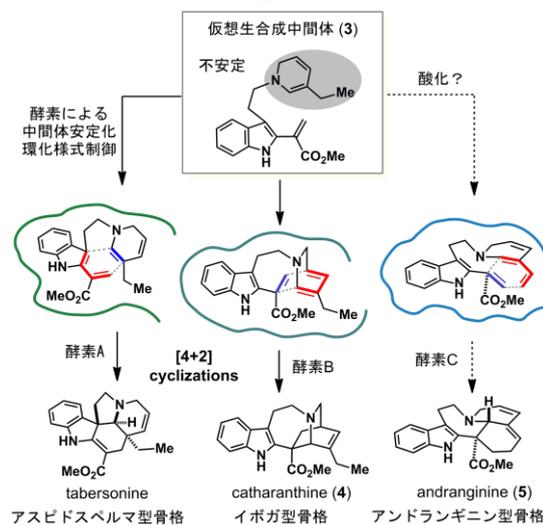


図 2 アルカロイド群の推定生合成経路

分岐型の生合成経路を合成化学的に再構築すべく、3 に官能基を導入して安定化した多能性中間体 (6) を設計・合成した (図 3)。アキラルな 6 に潜在する多彩な化学反応性を合理的に引き出す戦略で、5 系統以上の分子内環化を実現する。単純な出発物質群から僅か数工程の変換で構造の多様性と複雑性を獲得した天然/非天然型骨格ライブラリーを創製する。さらに、複数のアルカロイドを

全合成し、本アプローチの実効性を示す。

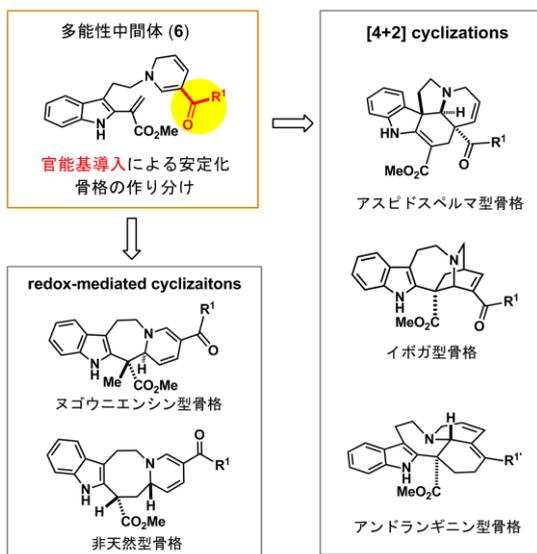


図3 多能性中間体の設計と骨格多様化戦略

#### 4. 研究成果

(1) アザールテミシニンの設計と合成  
アルテミシニン (1) の6位の不斉炭素を窒素に置換した6-アザアルテミシニン群を設計し、短段階で合成するルートを開発した (図4)。三種類の構築ブロック (アミン, アルデヒド, アセチレン) を銅触媒で連結し、環化前駆体を一挙に合成した (7+8→9)。次に、環化前駆体9のエンイン部位を低原子価金属で活性化させて環化させ、Z配置の三置換ビニルシランを導入しながら六員環を構築した。検討の末、Ti (II) による環化でピペリジン環 10 を高ジアステロ選択的に合成できることを見出した。10のケトンとエステルの保護基を除去した後、ビニルシランとオゾンとの1,3-双極子付加とシリル基の転位を伴う環開裂により、シリルペルオキシドとアルデヒドを同時に導入した。これをワンポットで連続環化させ、アザールテミシニン 11 (ラセミ体) の合成に成功した。窒素の特性を活用した三成分連結と低原子価チタンによる高ジアステロ選択的な環化を効率的に実施した。また、ビニルシランのオゾン酸化でペルオキシド架橋部位を導入する Averyらの手法を改良し、構築ブロック7から僅か四工程で9-デメチル-6-アザアルテミシニンを合成するルートを開発できた。

北里大学のグループと共同で、*In vitro* 抗マラリア活性 (*Plasmodium falciparum* K1株) を評価した。6位の窒素に脂溶性の側鎖を導入した2種の9-デメチル-6-アザアルテミシニンが強力な抗マラリア活性を発現することを見出した (11:  $IC_{50} = 35$  nM, 12:  $IC_{50} = 55$  nM)。それぞれラセミ体で評価したこれらの *In vitro* 抗マラリア活性は、天然物アルテミシニン (1:  $IC_{50} = 21$  nM) とほぼ同等であった。ヒトMRC-5細胞に対する増殖阻害効果を評価し、マラリア原虫に対して優れた選択性を有していることが分かった

(Selectivity Index > 1000)。次に、げっ歯類マラリア (*Plasmodium berghei* N株) を感染させたマウスに対する試験を検討した。6位の窒素にベンジル基を連結した9-デメチル-6-アザアルテミシニン (12) を腹腔内投与 (30 mg/kg x 4) した結果、*In vivo* の原虫増殖抑制効果は96%に上った。マラリアの根絶は難しいと推定されるものの、水溶性を改善した半合成抗マラリア薬アルテネット (2: 94%) に匹敵する優れた治療効果を見出すことができた。今後、9-デメチル-6-アザアルテミシニンの構造をX線結晶構造解析で確認する。また、抗マラリア活性を再試した後、論文公表する予定である。

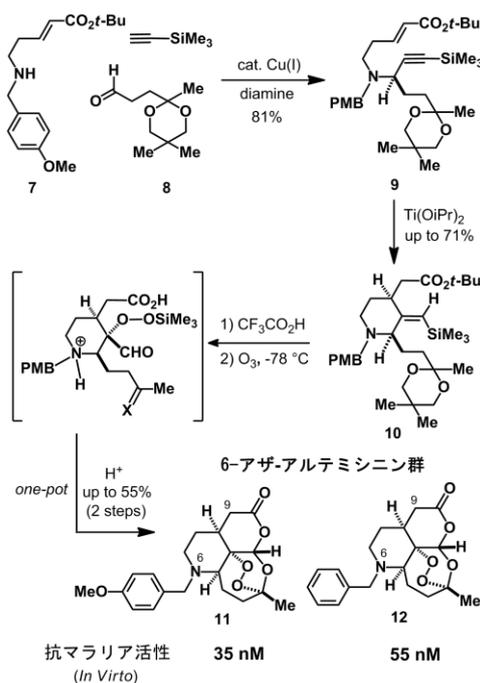


図4 アザールテミシニンの短段階合成

#### (2) アルカロイド群の骨格多様化合成

ジヒドロピリジンに電子吸引性のカルボニル基を共役させた多能性中間体(6)を設計した。反応性に富んだ短寿命生成中間体の安定化と骨格構築反応の制御を目論んだ。まず、繊細なジヒドロピリジンを構築する独自の手法を開発した (図5)。モデル基質とした*N*-プロパルギルエナミン 13 に対し、カチオン性銅 (I) 触媒 15 で環化させる条件を見出した。無保護のインドールが分子内に近接する系で触媒反応を最適化し、室温で1時間攪拌する温和な条件で1,6-ジヒドロピリジン 14 をほぼ定量的に合成する系を確立した。

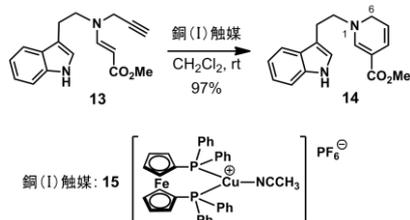


図5 銅触媒によるジヒドロピリジンの合成

ビニルインドール構造を簡便に構築しつつ、ジヒドロピリジンの形成に必要な  $\alpha$ -プロパルギルエナミンを同時に導入するルートを開発した (図6)。トリプタミン **16** と2種の構築ブロックから、三環性の **17** を4工程で合成した。三級アミン **17** の **18** への共役付加がトリガーとなる Hofmann 脱離を進行させ、ビニルインドール構造を効率良く導入した **19** を合成できた。得られた多官能性のエンイン **19** に対し銅触媒でアセチレンを選択的に活性化して 6-*endo* 環化させ、多能性中間体 **6** を合成した。ジヒドロピリジンとビニルインドールが近接した構造を持つ **6** は単離困難であったが、希釈溶液として実験室での取扱いが可能な安定性を有していた。

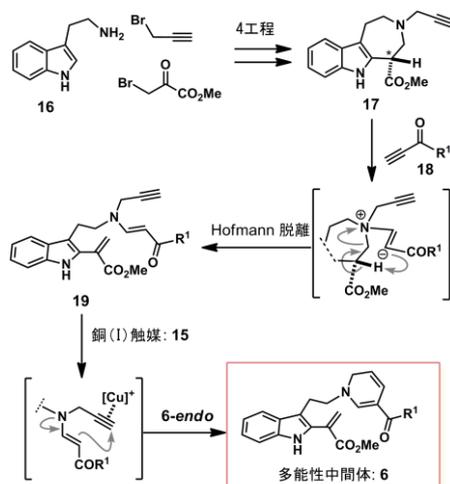


図6 多能性中間体の合成

多能性中間体 **6** を簡便に室温で調製する手法を開発できたので、三系統の [4 + 2] 型環化による多環性骨格の作り分けを行った (図7)。まず、メチルエステル **18a** と **17** から **6** を合成した。銅 (I) 触媒によるジヒドロピリジン形成を 60 °C で検討すると、ワンポットで [4 + 2] 型環化が進行し、イボガ型骨格 **19** を効率良く合成できた。保護基を使用することなく、**16** から僅か6工程でイボガ型骨格の構築に成功した。

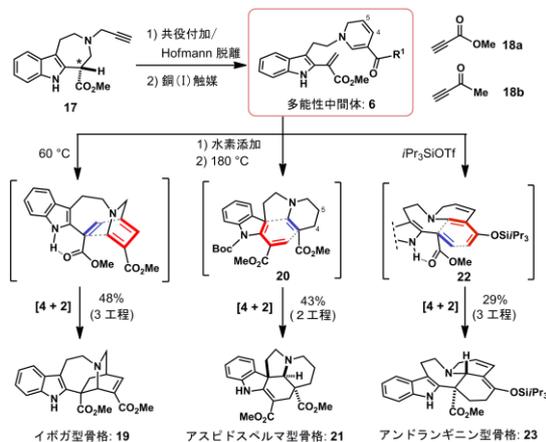


図7 [4+2]型環化による骨格の作り分け

アスピドスペルマ型骨格の構築を検討した (図7)。無保護の **6** を用い、ジヒドロピリジンをジェノフィルとする [4 + 2] 型環化を試みたが、目的のアスピドスペルマ型骨格の構築は困難であった。電子吸引性のカルボニル基を連結して安定化を図ったジヒドロピリジン中間体においても、種々の活性化条件でピリジニウムイオンへの酸化が優先した。また、少し加温する条件では、イボガ型骨格 **19** を与える環化が競争した。**6** からピリジニウムへの酸化と **19** の形成を抑制するため、インドール窒素を保護し、ジヒドロピリジンの4, 5位二重結合を位置選択的に還元した中間体 **20** を調製した。得られた **20** を 180 °C に加熱し、Boc 基を熱分解しながら目的の様式の [4 + 2] 型環化を進行させ、アスピドスペルマ型骨格 **21** を合成できた。

次に、アンドランギニン型骨格 **23** を構築するため **18a** の代わりに **18b** を用いて、ジヒドロピリジンにメチルケトンを連結した中間体を合成した (図7)。メチルケトン部位をシリルエノールエーテルに変換して共役トリエン構造を持つ中間体 **22** を発生させると、ワンポットで第三の形式の [4 + 2] 型環化が室温で進行し、アンドランギニン型骨格 **23** の構築に成功した。

上記とは異なる様式の分子内環化を実施するため、ジヒドロピリジン環の二電子/一電子酸化による活性化を検討した (図8)。多能性中間体 **6** の1, 6-ジヒドロピリジンと補酵素 NADH の1, 4-ジヒドロピリジン部位が類似していることを考慮して、ヒドリドを放出してピリジニウムイオンを形成する二電子酸化での骨格構築を試みた。**6** を 60 °C に加熱すると、上述のようにイボガ型骨格 **19** が主生成物となるが、120 °C ではヌゴウニエンシン型の **24** が優先的に良好な収率で合成できることを見出した。ジヒドロピリジンの6位からヒドリドが転位し、ピリジニウム/エノレートとなった双性イオン活性種が7-*endo* 環化して **24** が高立体選択的に形成する可能性が高いと考察している。また、高温条件では一旦形成した **19** から逆 Diels-Alder 反応で **6** が再生される経路の関与が示唆された。

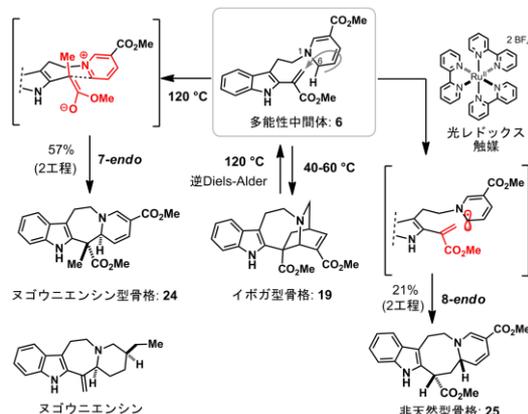


図8 二電子/一電子酸化による骨格多様化

光レドックス触媒による反応においても、ジヒドロピリジン誘導体が優れた一電子供与剤となる。実際、多能性中間体 **6** を光レドックス触媒で活性化すると、非天然型の四環性骨格 **25** を構築することができた (図 8)。ジヒドロピリジンが一電子酸化され、6 位に炭素ラジカル種が発生し、これが 8-endo 型環化した骨格形成機構を提案した。

多能性の鍵中間体 **6** に対し、三系統の [4+2] 環化と二電子/一電子酸化を経る環化を実現した (図 9)。ジヒドロピリジンやビニルインドールに潜在する多彩な化学反応性を協同的に引き出すアプローチで、五系統のアルカロイド骨格の作り分けに成功した。

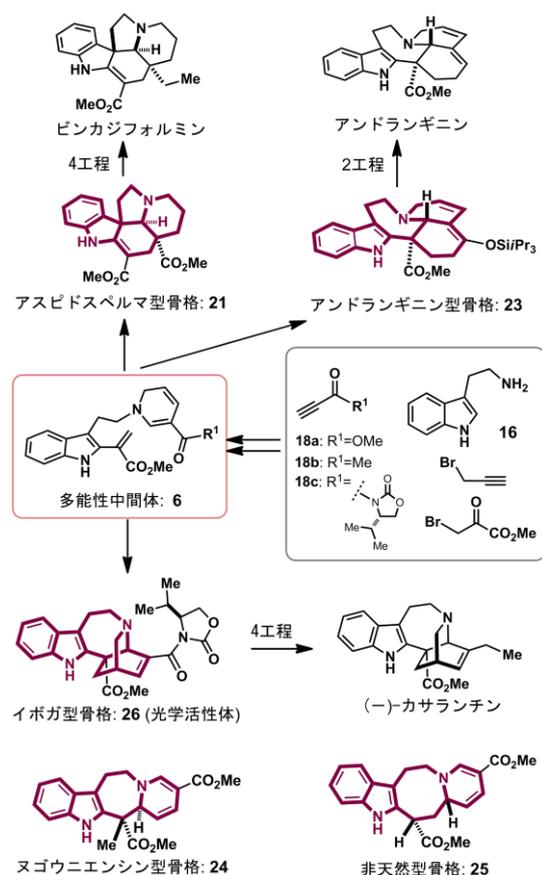


図 9 骨格多様化合成と天然物の全合成

本研究で開発した骨格多様化合成法の有効性を実証すべく、三系統の [4+2] 型環化で構築した骨格を活用して天然物を全合成した (図 9)。アスピドスペルマ型骨格 **21** からは、ジヒドロピリジンの安定化のために導入したメチルエステルをエチル側鎖へ 4 工程で変換し、(±)-ピンカジフォルミンを全合成した。また、アンドランギニン型骨格 **23** では、シリルエノールエーテル部位を 2 工程で還元して(±)-アンドランギニンの初めての全合成を達成した。また、X線結晶構造解析でその構造を確認した。

カサランチンについては、モジュラー式合成プロセスの柔軟性を活かし、合成の終盤でエナンチオ選択的に骨格を構築した (図 9)。

アルキニルケトンとして、**17** にキラルなオキサブリジノン<sup>20</sup>を有する **18c** を作用させ、**17** の不斉中心 (\*印) を消失させるとともに不斉補助基を導入した中間体を合成した。鍵となる [4+2] 型環化は高いジアステレオ選択性で進行し、**26** を良好な収率で合成できた。不斉補助基を除去してエチル側鎖を導入し、**16** から全 10 工程で (-)-カサランチンの不斉全合成を達成した。

以上のように生合成経路を模倣した合成戦略により、一連のアルカロイド群の構造を簡略化することなく、多官能性の縮環骨格を系統的に多様化する化合物群生産プロセスの開発に成功した。多成分をモジュラー式に集積化する手法と、官能基選択性の高いジヒドロピリジン形成法を開発して、多能性中間体 **6** を簡便に合成した。四系統のアルカロイド骨格 (イボガ、アスピドスペルマ、アンドランギニン、ヌゴウニエンシン型) や非天然型骨格をトリプタミン **16** からいずれも 6-9 工程以内で合成することができた。

## 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 6 件)

- ① Haruki Mizoguchi, Hideaki Oikawa, Hiroki Oguri\* “Biogenetically inspired synthesis and skeletal diversification of indole alkaloids” *Nature Chemistry* 2014, 6, 57-64. doi: 10.1038/nchem.1798. 査読有
- ② 大栗博毅, 溝口玄樹 “生合成経路を模倣した骨格多様化合成 -ニチニチソウに学ぶアルカロイド骨格の作り分け” 化学 (化学同人 京都) 69(5), 12-17 (2014). 査読無
- ③ 大栗博毅 “生合成経路を模倣した天然物の骨格多様化合成” 化学と工業 天然物化学・生命科学ディビジョントピックス 67(2), 147 (2014). 査読無
- ④ 大栗博毅 “骨格を多様化した天然物アナログ群の迅速合成: 抗感染経活性物質の創製” 月刊ファインケミカル 特集 天然物合成化学の新たな展開 (シーエムシー出版) 43 (2), 30-36 (2014). 査読無
- ⑤ Hiroki Oguri\*, Haruki Mizoguchi, Hideaki Oikawa, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Kazuhiko Otaguro, Satoshi Omura “Parallel and four-step synthesis of natural product-inspired scaffolds through modular assembly and divergent cyclization” *Beilstein J. Org. Chem.* 2012, 8, 930-940. (Thematic Issue: Recent Developments in Chemical Diversity) 査読有
- ⑥ Haruki Mizoguchi, Hideaki Oikawa, Hiroki Oguri\* “Hg(OTf)<sub>2</sub>-Catalyzed Direct Vinylation of Tryptamines and Versatile Applications for Tandem

Reactions” *Org. Biomol. Chem.* 2012, 10, 4236-4242. doi: 10.1039/c3ob41918e 査読有

[学会発表] (計 30 件, 主要な 14 件を記載)

- ① **大栗博毅** “Development of a biogenetically inspired assembly line for skeletally diverse indole alkaloids” Queenstown Molecular Biology Meeting in Shanghai: Drug Discovery & International Collaboration, 2014. 3. 14, 上海 Parkyard Hotel, 中国.
- ② **大栗博毅** “多環性天然物の骨格多様化合成による生理活性化合物群の創製” 日本化学会 平成 25 年度函館地区化学講演会, 2014. 2. 27, 北海道大学函館キャンパス, 函館.
- ③ **大栗博毅** “天然物の骨格多様化合成プロセス開発” 第 16 回生命化学研究会, 2014. 1. 10, KKRホテル熱海, 静岡.
- ④ **大栗博毅** “Design & Expedition Synthesis of Natural Product-Inspired Multi-cyclic Scaffolds: Strategies for Fragment Assembly and Skeletal Diversification” 第 93 日本化学会春季年会 有機化学ディビジョン アジア国際シンポジウム, 2013. 3. 24, 立命館大学びわこ・くさつキャンパス, 滋賀.
- ⑤ **大栗博毅** “Chemical Evolution of Natural Products through Generation of Skeletal Variations” Asian Chemical Biology Initiative 2013 Bangkok Meeting, 2013. 1. 27, Pullman Bangkok Hotel, Thailand.
- ⑥ 溝口玄樹, **大栗博毅**, 及川英秋 “骨格改変戦略によるインドールアルカロイド群の迅速合成” 第102回有機合成シンポジウム, 2012. 11. 9, 早稲田大学国際会議場, 東京.
- ⑦ 溝口玄樹, **大栗博毅**, 及川英秋 “インドールアルカロイドの骨格改変合成” 第42回複素環化学討論会, 2012. 10. 11, 京都テルサ, 京都.
- ⑧ **大栗博毅** “3D-Fragment Assemblies on Natural Product-Inspired Scaffolds” Queenstown Molecular Biology Meetings 2012: Chemical Biology and Drug Discovery, 2012. 8. 27, Queenstown, New Zealand.
- ⑨ **大栗博毅** “骨格改変合成: 高次構造化合物群の設計と迅速合成” 第二回有機分子構築法夏の勉強会, 2012. 5. 19, ラフォーレ蔵王, 宮城.
- ⑩ **大栗博毅** “Expeditious Synthesis of Natural Product Analogs: Systematic Generation of 3D-Structural Diversity” Asian Chemical Biology Initiative 2012 Hanoi Meeting, 2012. 2. 25, Hanoi, Vietnam.
- ⑪ **大栗博毅** “Concise Synthesis and Structural Diversification of Natural

Product Analogues” MCR2011: The 5<sup>th</sup> International Conference on Multi-component Reactions and Related Chemistry, 2011. 11. 16, 杭州三台山荘, 中国.

- ⑫ 溝口玄樹, **大栗博毅**, 及川英秋 “多環式アルカロイド群の分岐型迅速合成プロセス: 生合成を模倣した構造多様化戦略” 第 53 回天然有機化合物討論会, 2011. 9. 29, 大阪国際交流センター, 大阪.
- ⑬ **大栗博毅** “天然物類似低分子群の迅速合成と構造多様化: 生体機能分子探索資源の創製を目指して” ERATO 伊藤グライコトリロジープロジェクトシンポジウム生命化学の最先端, 2011. 7. 27, 理化学研究所・和光研究所, 埼玉.
- ⑭ **大栗博毅** “天然物類似低分子群の迅速合成と構造多様化: 生体機能創成を志向した合成化学的アプローチ” 横浜市立大学 2011 年度基盤科学セミナー, 2011. 6. 3, 横浜市立大学, 神奈川.

[産業財産権]

○出願状況 (計 1 件)

名称: 抗マラリア活性を有するアザアルテミシニン誘導体及びその製造方法

発明者: **大栗博毅**, 比留間貴久, 大村 智, 乙黒一彦, 岩月正人

権利者: 同上

種類: 特許願

番号: 2012-194910

出願年月日: 2012 年 9 月 5 日

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ:

[http://wwwchem.sci.hokudai.ac.jp/~yuhan/member/oguri\\_public.html](http://wwwchem.sci.hokudai.ac.jp/~yuhan/member/oguri_public.html)

[報道, ハイライト記事等]

- ① ハイライト記事掲載 (E. M. Carreira, S. Krautwald *SYNFACT* 2014, 10, 113. DOI: 10.1055/s-0033-1340561) *SYNFACT of the month* に選出, 2014 年 2 月 1 日.
- ② 科学新聞 一面掲載, 2013 年 12 月 13 日
- ③ Chem-Station に解説記事と論文著者インタビュー掲載, <http://www.chem-station.com/blog/2013/11/post-581.html>, 2013 年 11 月 29 日.
- ④ 北海道新聞, 2013 年 11 月 25 日.
- ⑤ 北海道大学プレスリリース, 2013 年 11 月 25 日.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

大栗 博毅 (OGURI HIROKI)

北海道大学・大学院理学研究院・准教授

研究者番号: 80311546