

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 5 月 13 日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23780112

研究課題名(和文) 特異な環構造と強力な殺虫活性を有するインドールジテルペン類の全合成と構造活性相関

研究課題名(英文) Synthetic studies and SAR of the structurally complex indole diterpenes showing strong insecticidal activities

研究代表者

榎本 賢 (Enomoto, Masaru)

独立行政法人産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・研究員

研究者番号：90546342

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円、(間接経費) 1,080,000円

研究成果の概要(和文)：インドールジテルペン類は昆虫成長阻害や細胞分裂阻害、抗MRSAなど多様な生物活性が報告されているので、その簡便な合成法を確立して安定な化学供給と構造活性相関研究が実現できれば、作用機構の解明に繋がり、化学生態学や細胞生物学、医薬分野等の広範な学問分野の発展へ貢献できる。しかしながら、それらの複雑な構造が簡便な合成を阻んでいた。申請者はインドールジテルペン類の効率的な合成法確立と作用機構解明を目指して研究を行った。その結果、痙攣作用を示すパスパリニンをこれまでより6工程短縮し収率も向上した合成経路を開発した。また、プロゲステロン受容体アンタゴニストであるレカニンドールDの初の全合成にも成功した。

研究成果の概要(英文)：Indole diterpenes are known to possess intriguing biological activity such as insecticidal, mito-inhibitory, and anti-MRSA activities. Therefore, synthetic studies and chemical supply of these compounds could solve the mechanism of action and contribute to development of various biology such as chemical ecology, cell biology, medicinal science. But, it was difficult to synthesis this family of natural products due to their complex structures. In this study, we have developed an efficient method to construct the indole diterpine framework and achieved total synthesis of paspalinine, a tremorgenic alkaloid, and lecanindole D, a progesterone receptor agonist.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学(生物生産化学・生物有機化学)

キーワード：天然有機化合物 indole diterpine paspalinine lecanindole D 全合成 構造活性相関

### 1. 研究開始当初の背景

微生物や植物等によって生み出される生理活性物質は、しばしば人間の想像力を超越した斬新な化学構造を提示し、有機合成化学の進歩を促すとともに、全く新しい作用機序に基づく新規医薬・農薬の開発のための糸口を提供してきた。本研究の対象化合物であるインドールジテルペン類は広範な生物活性を有するため生物学者から大きな注目を集めてきただけでなく、特異な構造により有機合成化学者の関心も集めてきた。しかしながら単離・構造決定から数十年を経ているにも関わらず、その構造の複雑さ故にこれまでに全合成に成功しているのは一つのグループのみであり、作用機構解明のための化学的な研究が行われていなかった。多様な生物活性を有する本化合物群の全合成及び化学的な研究により、生物学に関する広範な学問分野へ貢献できるものと考え本研究を開始した。

### 2. 研究の目的

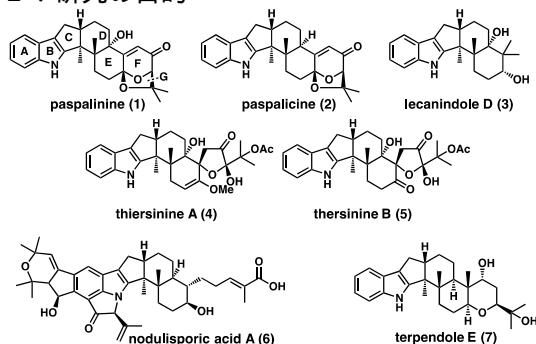
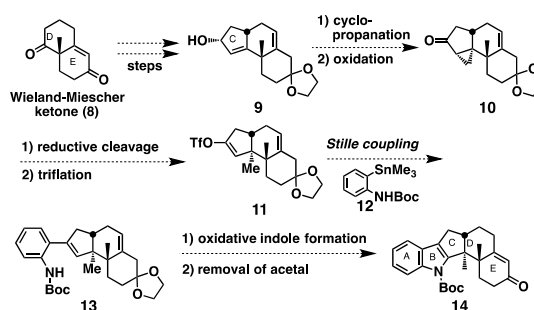


Figure 1. Indole Diterpenes

Fig. 1 に代表的なインドールジテルペン類を挙げた。これらは哺乳類に対する痙攣作用 (paspalinine (1)) やプロゲステロン様活性 (lecanindole D (3))、昆虫成長阻害 (thiersinine A (4) & B (5))、殺虫活性 (nodulisporic acid (6))、細胞分裂阻害 (terpendole E (7)) など多様な生物活性が報告されているので、その簡便な合成法を確立して安定な化学供給と構造活性相関研究が実現できれば、作用機構の解明に繋がり、化学生態学や細胞生物学、医薬分野等の広範な学問分野の発展へ貢献できる。合成化学的にもインドールとテルペン構造が合わさった複雑且つ特異な構造有しており、これらの簡便な合成法を開発できれば有機合成化学分野における学術的インパクトは極めて大きい。我々は下記「3. 研究の方法」に示した手法によりインドールジテルペン骨格が簡便に調製できるものと考えた。そこであえて過去に合成例が知られている paspalinine (1) を当面の標的化合物とし、本合成戦略の有効性を実証するべく、これまでに知られている 1 の収率・工程数を凌駕することを目標として研究を行った。

### 3. 研究の方法

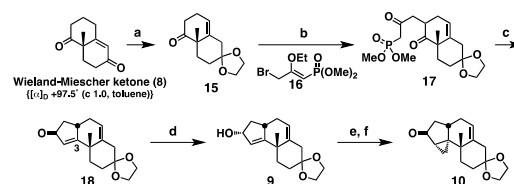
我々は Scheme 1 に示す様に、シクロプロパン環の立体選択的導入と開裂によるインド



Scheme 1. Synthetic Plan for Construction of the Indole Diterpene Framework (A-E Ring System)

ールジテルペン基本骨格 (trans-anti-trans 5,6,6-環系、A-E 環部) の構築、それに続く Stille カップリングと酸化インドール形成反応を基本戦略とし、効率的な骨格合成法が開発できるものと考えた。

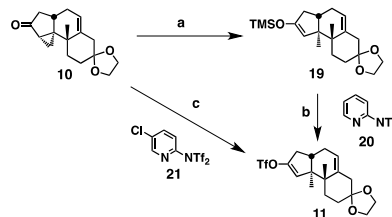
### 4. 研究成果



Scheme 2. Construction of the C Ring

Reagents and conditions; a) ethylene glycol CPTS, toluene, reflux, 44%, (88% brsm); b) LDA, HMPA, THF,  $-78^{\circ}\text{C}$  to rt then aq. HCl/acetone,  $0^{\circ}\text{C}$ , 68%; c)  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ , THF,  $50^{\circ}\text{C}$ , 77%; d) L-Selectride<sup>®</sup>, THF,  $-78^{\circ}\text{C}$ , 99%; e)  $\text{CH}_2\text{I}_2$ ,  $\text{Et}_2\text{Zn}$ ,  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , rt; f) Swern oxd. 77% (2 steps)

上述の基本合成戦略に基づき、paspalinine の A-E 環部の調製を行った。再結晶により得た光学的に純粋な Wieland-Miescher ケトンを出発原料とし、既知の方法 (反応 a) に従って共役カルボニル選択的に保護して 15 を得た。続いて、分子内 Horner 反応 (反応 c)、立体選択的シクロプロパン化 (反応 e) を含む数工程の変換により、C-E 環部を含む 10 へと導いた。



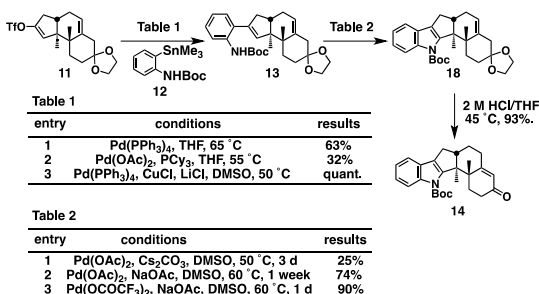
Scheme 3. Installation of an Angular Methyl Group

Reagents and conditions; a) Na-naphth, THF,  $-78^{\circ}\text{C}$  then isoprene,  $\text{Et}_3\text{N}$ , TMSCl, 45%. b) MeLi, THF,  $0^{\circ}\text{C}$ , then 20, 88%; c) Na-naphth, THF,  $-78^{\circ}\text{C}$  then HMPA, 21, isoprene, 42%.

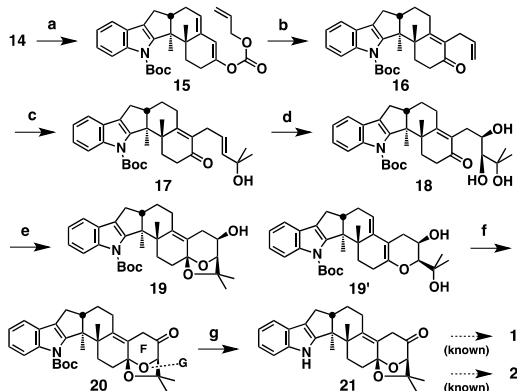
シクロプロパン環の開環はナトリウムナフタレニドを用いた時が最良の結果を与え、収率 45% で 19 を得た (Scheme 3 反応 a)。続いて、19 をメチルリチウムで処理した後に生じたアニオンを試薬 20 で捕捉することにより所望の化合物 11 を得ることが出来た (反応 b)。短工程化に向けた検討の結果、最終的には 10 のナトリウムナフタレニド処理で生じたアニオンを試薬 21 で直接捕捉することで 11 を収率 42% で得ることに成功した (反応 c)。

続いて、AB 環構築に向けた検討に移った。

Scheme 4. Formation of the Indole Ring

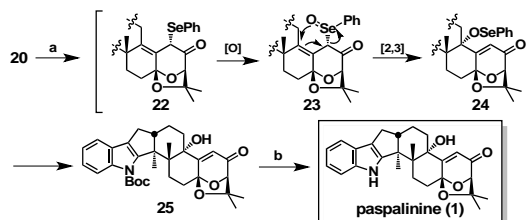


(Scheme 4) まず 11 と既知化合物 12 との Stille カップリングを検討したところ、Pd(0) 触媒に塩化銅(I)、塩化リチウムを加える条件より定量的に 17 を得ることに成功した (Table 1, entry 3)。続くインドール環形成反応では、酢酸パラジウムを用いた条件では 1 週間反応させても収率 74% にとどまったが (Table 2, entry 2) トリフルオロ酢酸パラジウムを用いると良好な収率且つ反応時間 1 日で 18 が得られることを見出した (Table 2, entry 3)。これら 2 工程の変換は従来の Fischer 法や Gassman 法に比べて温和且つ非常に効率的 (2 工程 90%) で、従来法に替わる新たなインドール合成法として期待できるものである。最後にアセタールの除去を行って A-E 環部位を備えた 14 の調製を完了した。



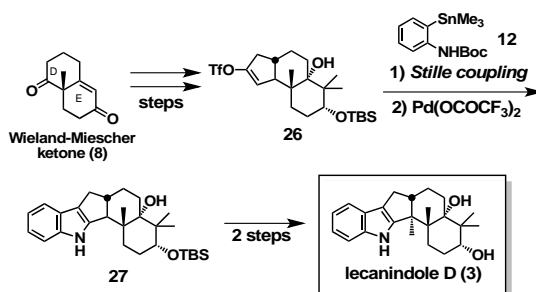
Scheme 5. Construction of the FG Ring  
Reagents and conditions; a) KO<sup>t</sup>Bu, AlCl<sub>3</sub>, THF, 40 °C; b) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, PPh<sub>3</sub>, DME, rt, then DBU 72% (2 steps); c) Grubbs-II, 2-methyl-3-butene-2-ol, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, reflux, 78%; d) AD-mix β, NaHCO<sub>3</sub>, *t*-BuOH/water, 15 °C; e) CPTS, MeOH, 5 °C, 31% (2 steps, 28/28<sup>+</sup>=4:1); f) DMP, NaHCO<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, rt, 71%; g) SiO<sub>2</sub>, 90–100 °C under vacuum, 71%.

残る FG 環の構築に向けた最初の課題は側鎖の位置選択的導入であったが、我々が thiresinine 右側部位の合成研究で見出した手法を適用することで良好な収率・完全な位置選択性でアリル基を導入できた (Scheme 5, 反応 a&b)。続いて、これを足がかりとして FG 環の構築に取りかかった。先ず側鎖を伸長後 (反応 c)、Sharpless 不斉ジヒドロキシル化を行い (反応 d)、CPTS を触媒として分子内アセタール化を試みた。所望の 19 に加えて副生成物として 19' が得られることが問題であったが、溶媒にメタノールを用いることで 19 を優先的に得ることが出来た (反応 e)。これを酸化することでケトン 20 へと導いた (反応 f)。これにより paspalinine (1) および paspalicine (2) の形式合成を達成できたことになるが、より効率的な 20 から 1 への変換を目指して検討を行うことにした。



Scheme 6. Completion of the Total Synthesis of Paspalinine (1)  
Reagents and conditions; a) KHMDS, PhSeCl, THF, -78 °C, then NaHCO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, rt, 57%; b) SiO<sub>2</sub>, 90–110 °C under vacuum, 67%

20 から 1 を合成するにあたり最大の問題は、分子内に酸化に鋭敏なインドールが共存する中で立体的に込んだ核間位にヒドロキシ基を導入することである。我々はセレノキシドの 2,3-シグマトロピー転位によりこの問題の解決に成功した (Scheme 6)。即ち、前述の 20 をフェニルセレネニル化した後 (20 → 22) 反応容器に重曹と過酸化水素を加えることで (22 → 25) 20 から one pot で直接 25 へ変換することに成功した。最後に、シリカゲルに吸着させた 25 を減圧加熱することにより Boc 基の除去を行い、paspalinine (1) の全合成を既知物質 15 より全 17 工程 (総収率 0.67%) で達成した。これは過去に Smith らにより報告されている唯一の合成例 (全 23 工程、総収率 0.57%) を凌駕するものであり、本合成戦略の有効性を実証できたものと考えている。

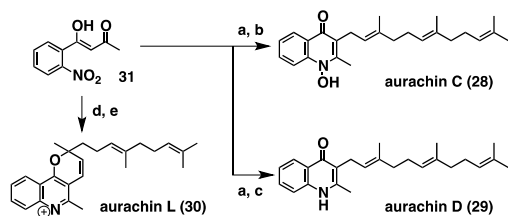


Scheme 7. Total Synthesis of Lecanindole D (1)

また本研究で開発したインドールジテルペンの骨格合成法を利用して、黄体ホルモン作用活性物質 lecanindole D (3) の世界初の全合成にも成功した (Scheme 7)。これまでインドールジテルペン類の合成例は米国ペンシルベニア大学の Smith らのグループにより報告されているのみ数例報告されているのみであったが、本研究の成果によりインドールジテルペン類の従来より簡便な供給が可能になった。

本合成研究により、これまで合成困難な化合物の一つに位置付けられていたインドールジテルペン類の簡便な合成が可能となった。この paspalinine の全合成達成は有機化学分野の注目論文を紹介するインターネットサイト *Organic Chemistry Highlight* に掲載されるなど、有機合成化学分野に大きなインパクトを与えた。現在、共同研究者のもと (産業技術総合研究所バイオメディカル研究部

門)で構造活性相関研究が進行中であり、本研究成果を発端として多様な生物活性を有するインドールジテルペン類の作用機構解明が進み、化学生態学や細胞生物学、医薬分野等の広範な学問分野の発展が促進されるものと考えている。



Scheme 8. Synthesis of Antibiotic Alkaloid Aurachins C, D & L. Reagents and conditions: a) NaH, farnesyl bromide, HMPA, THF, 0 to 60 °C (52%, 69% based on recovered 7); b) Zn dust, NH<sub>4</sub>Cl, EtOH/H<sub>2</sub>O (1:1), 80 °C (46%); c) Fe dust, 6 M HCl, EtOH, 90 °C (63%); d) farnesal, piperidine, toluene, rt to 60 °C, (39%); e) Zn dust, NH<sub>4</sub>Cl, EtOH/H<sub>2</sub>O (1:1), 80 °C (29%);

インドールジテルペン類の合成研究に加えて、強力な抗菌活性を有するアルカロイド aurachin C (28), D (29) および L (30) の全合成を既知物質 31 からわずか 2 工程で達成した。28 と 30 は初の全合成例である。

## 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3件)

1. Masaru Enomoto, Wataru Kitagawa, Yoshiaki Yasutake and Hiroki Shimizu “Total Total synthesis of aurachins C, D, and L, and a structurally simplified analog of aurachin C” *Bioscience, Biotechnology and Biotechnology*, 査読有, 78, (2014) in press. (URL: <https://www.jstage.jst.go.jp/browse/bbb>).
2. Akiko Asanuma, Masaru Enomoto, Tomohiro Nagasawa, and Shigefumi Kuwahara “Total Synthesis of (±)-Lecanindole D” *Tetrahedron Letters*, 査読有, 54, 4561–4563 (2013).
3. Masaru Enomoto, Akira Morita, Shigefumi Kuwahara “Total Synthesis of the Tremorgenic Indole Diterpene Paspalinine” *Angewandte Chemie International Edition*, 51, 査読有, 12833–12836 (2012).

[学会発表](計13件)

1. 榎本賢、北川航、安武義晃、清水弘、「抗菌活性物質 aurachin 類およびそのアナログ化合物の合成研究」、日本農芸化学会 2014 年度大会, 2014 年 3 月 29 日, 東京, 要旨集 3A07p20.
2. 榎本賢、北川航、安武義晃、清水弘、「抗菌活性物質 aurachin 類およびそのアナログ化合物の合成研究」、日本農芸化学会 2014 年度北海道支部大会, 2013 年 11

月 29 日, 講演番号 23.

3. 榎本賢、桑原重文、清水弘樹、「生物活性天然物部分構造を付与した金ナノ粒子の合成研究」、日本農芸化学会 2013 年度大会, 2013 年 3 月 25 日, 仙台, 要旨集 3C25a07.
4. 浅沼明子、榎本賢、永沢友裕、桑原重文、「黄体ホルモン作用物質 Lecanindole D の合成研究」、日本農芸化学会 2013 年度大会, 2013 年 3 月 25 日, 仙台, 要旨集 2C25a03.
5. 藤田聡美、渡邊麻衣、廣川高史、榎本賢、桑原重文、「癌細胞浸潤阻害物質 BU-4664L の合成研究」、日本農芸化学会 2013 年度大会, 2013 年 3 月 25 日, 仙台, 要旨集 2C25a04.
6. 鈴木智美、永沢友裕、榎本賢、桑原重文、「AI-77-B および Sg17-1-4 の合成研究」、日本農芸化学会 2013 年度大会, 2013 年 3 月 25 日, 仙台, 要旨集 2C25a05.
7. 滝野ちあき、榎本賢、桑原重文、「抗炎症活性物質 Rossinone A の合成研究」、日本農芸化学会 2013 年度大会, 2013 年 3 月 25 日, 仙台, 要旨集 2C25a08.
8. Tomomi Suzuki, Tomohiro Nagasawa, Masaru Enomoto and Shigefumi Kuwahara, “Synthetic Studies on Sg17-1-4”, International Symposium for the 70<sup>th</sup> Anniversary of the Tohoku Branch of the Chemical Society of Japan, 9/28–29, 2013, Sendai.
9. Masaru Enomoto, Akira Morita and Shigefumi Kuwahara, “Total Synthesis of Paspalinine”, 13<sup>th</sup> International Conference on the Chemistry of Antibiotics and Other Bioactive Compounds, 9/24–27, 2013, Yamanashi.
10. Shigefumi Kuwahara, Masaru Enomoto and Akira Morita, “Total Synthesis of Paspalinine”, Tohoku University Campus Asia Summer School, 8/28–31, 2013, Sendai, L-1, oral.
11. 榎本賢、森田暁、桑原重文、「Paspalinine の全合成」、第 54 回天然有機化合物討論会 (日本化学会, 日本薬学会, 日本農芸化学会共催) 2012 年 9 月 20 日, 東京, 要旨集 pp.211–216, 講演番号 36.
12. 榎本賢、森田暁、桑原重文、「Paspalicine および Paspalinine の合成研究」、日本農芸化学会 2012 年度大会, 2012 年 3 月 24 日, 京都, 要旨集 3A07a11.
13. 榎本賢、「特異な複素環構造を有する生物活性天然物の合成研究」、日本農芸化学会東北支部第 12 回若手の会, 2011 年 10 月 7 日, 山形 (2011 年度日本農芸化学会東北支部若手奨励賞受賞講演)。

[その他]  
ホームページ等

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/yuuki/abc/Top.html>  
(東北大学大学院農学研究科生物有機化学分野)

<https://unit.aist.go.jp/bpri/>  
( (独) 産業技術総合研究所生物プロセス研究部門 )

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

榎本 賢 ( Masaru Enomoto )

東北大学大学院農学研究科助教 ( 2012 年 3 月 31 日まで )

独立行政法人産業技術総合研究所生物プロセス研究部門研究員 ( 2012 年 4 月 1 日から )

研究者番号 : 90546342