

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 19 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24590019

研究課題名(和文) 薬剤耐性菌の耐性化因子抑制作用を有する新規テトラセン天然物の合成研究

研究課題名(英文) Total Synthesis of Naphthacemycins, Possession of Antibacterial Activity against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA)

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) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：Naphthacemycin類は、北里生命科学研究所においてMRSAに対するイミペネムの活性を増強する物質として、放線菌*Streptomyces* sp. KB3346-5株の培養液より単離された。また、一部の化合物は単独でも抗MRSA活性を有する。Naphthacemycin類は、A、B、C、D環からなるナフタセン骨格を有しており、そのD環にE環がピアリール結合を介して連結した特徴的な新規骨格を有している。本研究結果として抗MRSA薬創製に応用できるナフタセン骨格の構築法を確立し、それを応用することでnaphthacemycin A9の全合成法の確立に成功した。

研究成果の概要(英文)：The MRSA is typical drug-resistance bacterium, which has recently become a one of the social problem as infecting organism of nosocomial infection. Now, there are some of anti-MRSA drugs, but development of new anti-MRSA drugs is still required due to emergence new drug resistance bacterium. As a result of searching for the new anti-MRSA drug at the Kitasato Institute, novel naphthacemycins have been isolated from the culture broth of streptomyces sp. Bioactivity of these compounds is potentiate activity of imipenem against MRSA, and some of naphthacemycins possess antibacterial activity. Especially naphthacemycin A8 and A9 have potent antibacterial activity against MRSA. The structural feature of naphthacemycins consist of tetracene structure, E ring connected to D ring. We launched synthetic study of naphthacemycin A9 which has potent antibacterial activity against MRSA. As a result, we have accomplish the first total synthesis of naphthacemycin A9.

研究分野：有機合成化学

キーワード：MRSA Naphtacemycin 全合成 デッツ反応

### 1. 研究開始当初の背景

現在では、耐性菌の出現防止、バンコマイシンやアルベカシンなどの抗 MRSA 薬の副作用の軽減を目的にβ-ラクタム剤同士やβ-ラクタム剤と他の作用点を有する抗生物質との併用療法も行われている。しかし既存の抗菌剤に対して高度に耐性を示す耐性菌も出現していることから新規抗 MRSA 治療薬の開発が急務とされている。そこで新たな MRSA 対策として「耐性菌の薬剤耐性機構を標的とする薬剤」が注目されている。耐性菌の耐性機構を障害できれば、耐性を獲得された既存の薬剤と併用することで現行の抗生物質の活性の回復および増強が期待される。このような背景の中、北里生命科学研究所において微生物代謝産物より、カルバペネム系β-ラクタム剤であるイミペネムの抗 MRSA 活性を増強させる化合物の探索を行った結果、放線菌 *Streptomyces* sp. KB3346-5 株の培養液から新規天然物群である naphthacemycin 類 (Fig. 1) が単離された。

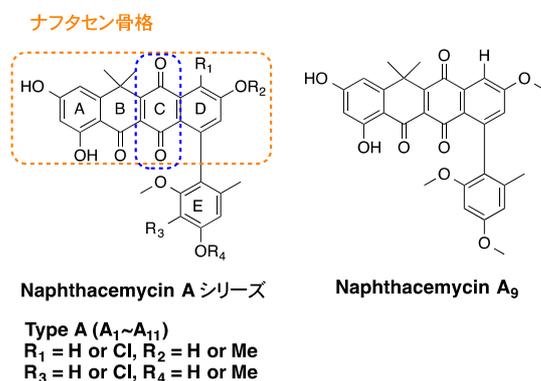


Fig. 1 Naphthacemycin の構造

単離された naphthacemycin 類のイミペネムの MRSA K24 株に対する増強活性は、イミペネムの MRSA K24 株に対する MIC が 32 μg/ml であるのに対し、イミペネムに naphthacemycin 類を 0.5 μg/ml 併用することでその MIC を 0.25 μg/ml ~ 0.06 μg/ml (128 ~ 512 倍) まで増強する。

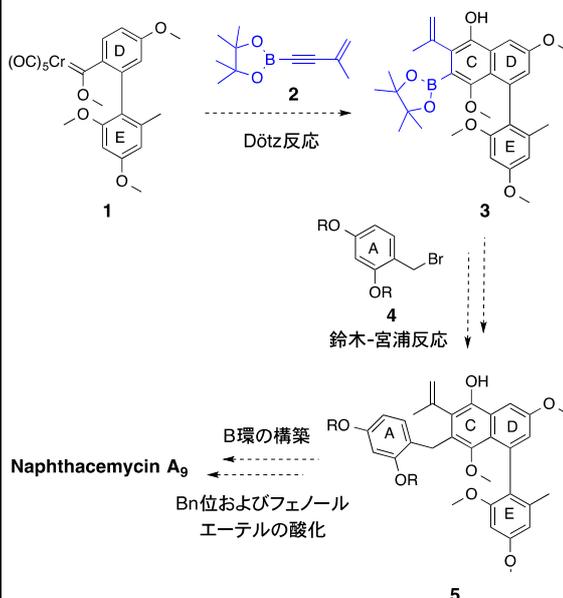
Naphthacemycin 類の構造的特徴は、A、B、C、D 環からなるナフタセン骨格を有しており、その D 環に E 環がピアリアル結合を介して連結した新規骨格を有している。また、この結合軸に不斉を有することが推測されるが、その絶対立体配置は未決定である。

### 2. 研究の目的

イミペネムの抗 MRSA 活性の増強活性のみならず、抗 MRSA 活性を有し且つ、非常に特異な新規骨格を有する naphthacemycin 類は有機合成化学的だけではなく、創薬科学的にも非常に興味深い天然物である。そこで本研究では誘導体合成可能な naphthacemycin の有するナフタセン骨格構築法の確立と天然物 naphthacemycin A<sub>9</sub> の全合成を目的に研究計画を立案した。

### 3. 研究の方法

本全合成のターゲットは最も強力な活性をしめす naphthacemycin A<sub>9</sub> とし、誘導体合成を視野に入れた naphthacemycin A シリーズの包括的な合成計画を考えた (Scheme 1)。すなわち、D 環ユニットと E 環ユニットの結合は鈴木-宮浦反応でカップリングを使用し、そのピフェニル体のクロム化を行うことで得られるクロムカルベン錯体 (1) に対し、ポロン酸エステルを有するアルキン体 (2) との Dötz 反応を利用しヒドロキノン (C 環) を構築するとともに位置選択的に官能基を導入することでポロン酸エステル (3) を得ることとした。続いて 3 に対し A 環ユニット (4) を鈴木-宮浦反応を用いて導入し 5 とし、その後、Friedel-Crafts 反応によりシクロヘキサジエン環 (B 環) を構築した後にベンジル位とヒドロキノンの酸化を行うことで naphthacemycin A<sub>9</sub> の全合成を達成できるものと考えた。



Scheme 1 Naphthacemycin A<sub>9</sub> の合成計画

### 4. 研究成果

Naphthacemycin A<sub>9</sub> の合成に着手する前に、その基本骨格となるナフタセン部分の単純化したモデル化合物 (6) (Fig. 2) の構築法の確立を行った。(Scheme 2)

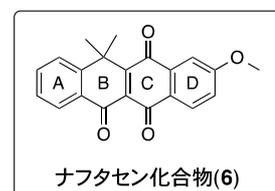
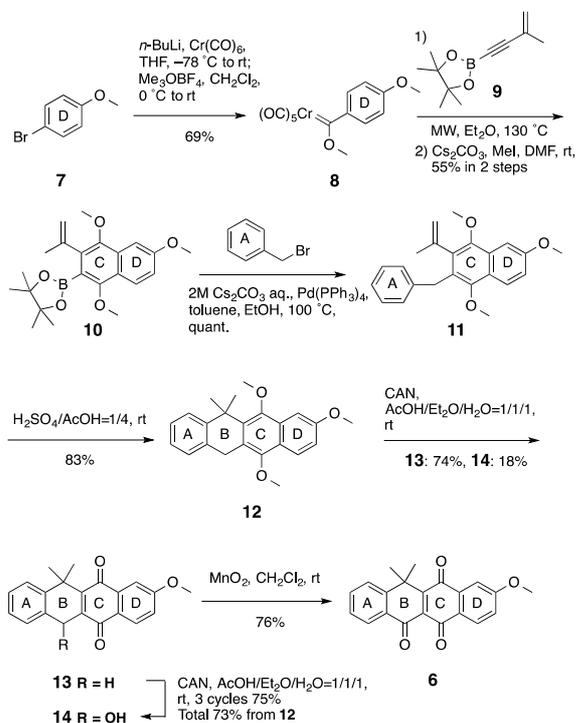


Fig. 2 ナフタセンモデル化合物

そこでまず、クロムカルベン錯体の調製を行った。市販の 4-ブロモアニソール (7) に対し無水条件下、*n*-BuLi を用いて Li 化した後に

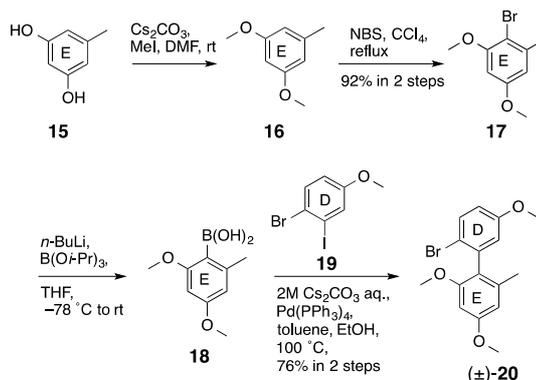
Cr(CO)<sub>6</sub>のTHF溶液に滴下することでCr化し、生じたアシルメタラートに対し Meerwein 試薬を用いて *o*-アルキル化し、収率 69%で **8**を得た。続いて得られた **8**と別途調製したアルキン体 (**9**)との Dötz 反応を行った。種々検討の結果、Et<sub>2</sub>O中、マイクロウェーブを用いて高温条件下にて反応を行い、生じる不安定なフェノール性アルコール体を未精製のままメチル基で保護することで目的の Dötz 生成物(**10**)を2工程、収率 55%で得ることが出来た。続いて **10**に対してベンジルプロミドとの鈴木-宮浦反応を行うことで定量的に生成物である **11**を得た後、硫酸を用いた Friedel-Crafts 反応により B 環の形成と CAN を用いた酸化によりキノン(**13**)へと変換した。この際に幸運にも **13**とベンジル位に水酸基が導入されたベンジルアルコール体 (**14**)が得られることがわかった。これは、キノンへ酸化したことで更に反応性の高くなったベンジル位に対し、酸化条件に伏したことで水の付加が生じたものと考えている。そこで CAN を用いたベンジル位の酸化を3回繰り返すことで **14**を得た。最後に **14**のアルコールを酸化することで目的とするモデル化合物(**6**)へと変換し、ナフタセン骨格の構築法を確立した。



Scheme 2 モデル体 (**6**)の合成

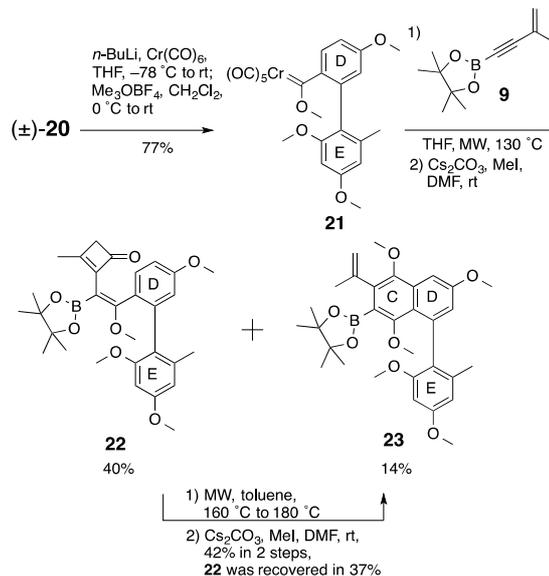
Naphtacemycin のナフタセン骨格に関して、その単純化した化合物(**6**)の構築法が確立できたので、次に Naphtacemycin A<sub>9</sub>の全合成に着手した。最初に Naphtacemycin A<sub>9</sub>の D、E 環ビアリール結合の構築を行った。オルシノール (**15**)に対し2つの水酸基を Me 化した後に、NBS を用いて加熱還流することで望みの

位置にプロモ基を導入した **17** を合成し、さらに *n*-BuLi を作用させハロゲン-Li 交換をおこなった後、B(O*i*-Pr)<sub>3</sub>を加えることでボロン酸 (**18**)へと誘導した。得られた **18**に対しパラジウムを用いた **19**との鈴木-宮浦反応を行うことで2工程、収率 76%で(±)-ビフェニル体 (**20**)を合成した (Scheme 3)。



Scheme 3 DE 環部の構築

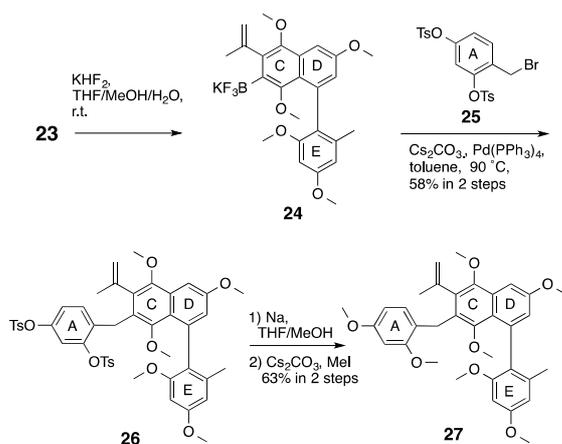
得られた(±)-ビフェニル体 (**20**)に対してクロム化を行った。まず、**20**をクロムカルベン錯体 (**21**)に変換後、Dötz 反応の検討を行った。本基質では THF を用いて反応を行ったところ、低収率ではあるものの望みの **23** (14%)と副生成物であるシクロプロテンン体(**22**) (40%)が得られた。更に検討を重ねた結果、**22**はトルエン溶媒中、マイクロウェーブ照射下、加熱を行うことでC環の再構築が進行することを見出し、**22**から 42%で望みの **23**を得ることに成功した(Scheme 4)。



Scheme 4 CDE 環部の構築

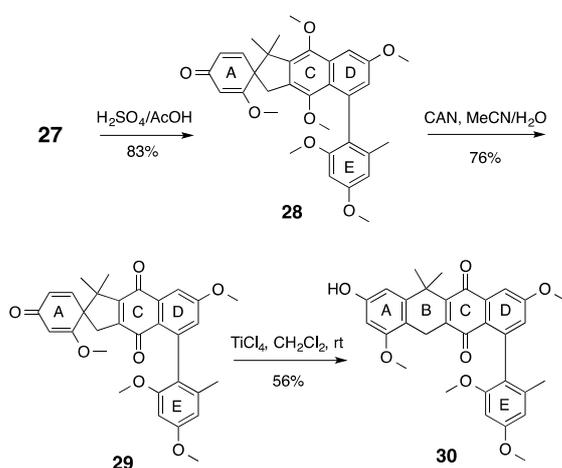
得られたボロン酸エステル (**23**)に対し A 環ユニットの導入を行った。しかし、モデル化合物の時とは異なり、**23**の反応性が十分ではなく、収率良くカップリング体を得ることが出来なかった。そこで、より効率的に反応

を進行させるため 23 のピナコールボラン部分からトリフルオロボレート体 (24)へと変換後、A 環部分(25)との鈴木-宮浦反応を行ったところ反応は速やかに進行し 2 工程、58%で 26 を得た。電子吸引性基である 26 の Ts 基は B 環構築に適さないため脱保護し、生じた水酸基のメチル化をおこない 27 へと導いた (Scheme 5)。



Scheme 5 ACDE 環部の構築

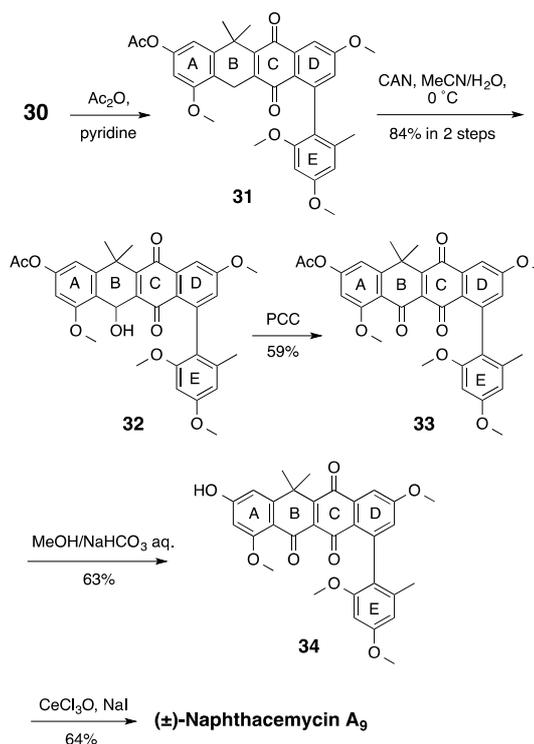
次に B 環の構築を行った。得られた 27 に対し酸を用いた Friedel-Crafts 反応ではスピロ環生成物(28)が得られた。モデル化合物の合成では Friedel-Crafts 反応による直接的な B 環構築が達成できているが、実際の基質(27)では A 環状のメトキシ基の関与でその生成物はスピロ環体に収束する結果となった。しかしながら 27 を CAN で酸化しキノン(29)へ変換後、TiCl<sub>4</sub> で処理することで、スピロ環の開環に次ぐ B 環形成が進行し、目的であるフェノール体(30)を得ることが出来た (Scheme 6)。



Scheme 6 ABCDE 環部の構築

全合成の最終工程ではモデル合成を参考に B 環の酸化、および A 環の脱メチル化を行った。すなわち、得られたフェノール体 (30)の水酸基を Ac 基による保護を行い 31 とした後、CAN を用いて B 環への水酸基の導入を

行ったところ、モデル化合物の時と同様にベンジルアルコール体 (32)が得られた。続いて得られたアルコール体 (32)に対するケトン体への酸化では、唯一、加熱条件下での PCC による酸化が進行し、目的物 33 を収率 59%で得ることができた。そして得られた 33 に対し、Ac 基の脱保護を行い、最後に A 環の MeO 基の選択的な脱 Me 化は高希釈かつ加熱条件下 CeCl<sub>3</sub>、NaI の条件で円滑に進行し 64%の収率で Naphthacemycin A<sub>9</sub> を得ることが出来、その全合成を達成した (Scheme 7)。



Scheme 7 Naphthacemycin A<sub>9</sub> の合成最終工程

更に本全合成ルートも利用することで幾つかの誘導体を合成し、生物活性評価に供としている。

## 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 8 件)

Aoi Kimishima, Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Takanori Matsumaru, Kaoru Nakamura, Ken Katsuyama, Masaki Toda, Hirokazu Takada, Rokuro Masuma, Satoshi Omura, Toshiaki Sunazuka, “Toward the total synthesis of luminacin: construction of 14-membered lacton framework possessing versatile enol ether moiety”, *Tetrahedron Lett.*, 53, 2012, pp 2813-2816. 査読あり

Ayumi Tsutsui, Tomoyasu Hirose, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Arisa Yokota, Hitomi Maruyama, Hidehito Matsui,

Kazuhiko Otoguro, Hideaki Hanaki, Satoshi Omura and Toshiaki Sunazuka, "Antimalarial C-9 oxime derivatives from tylosin, produced by click chemistry", *J. Antibiot.*, 66, 2013, pp 191-194. 査読あり

Akihiro Sugawara, Toshiaki Tanaka, Tomoyasu Hirose, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Yoko Takahashi, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Omura, Toshiaki Sunazuka, "Borrelidin analogues with antimalarial activity; design, synthesis and biological evaluation against *Plasmodium falciparum* parasites", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 23, 2013, pp 2302-2305. 査読あり

Tomoyasu Hirose, Yoshihiko Noguchi, Yujiro Furuya, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Omura and Toshiaki Sunazuka, "Structure determination and total synthesis of (+)-16-hydroxy-16,22-dihydroapparicine", *Chem. Eur. J.*, 19, 2013, pp 10741-10750. 査読あり

Tetsuya Ideguchi, Takeshi Yamada, Tatsuya Shirahata, Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Yoshinori Kobayashi, Satoshi Omura, and Toshiaki Sunazuka, "Asymmetric Total Synthesis of Neoxaline", *J. Am. Chem. Soc.*, 135, 2013, pp 12568-12571. 査読あり

Tomoyasu Hirose, Nobuo Maita, Hiroaki Gouda, Jun Koseki, Tsuyoshi Yamamoto, Akihiro Sugawara, Hirofumi Nakano, Kazuro Shiomi, Takeshi Watanabe, Hisaaki Taniguchi, K. Barry Sharpless, Satoshi Omura and Toshiaki Sunazuka, "Observation of the controlled assembly of preclick components in the In situ Click Chemistry generation of a chitinase inhibitor", *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 110, 2013, pp 15892-15897. 査読あり

Goh Sennari, Tomoyasu Hirose, Masato Iwatsuki, Satoshi Omura, Toshiaki Sunazuka, "A concise total synthesis of puberulic acid, potent antimalarial agent", *Chem. Comm.*, 50, 2014, pp 8715-8718. 査読あり

Takeshi Yamada, Tomoyasu Hirose, Satoshi Omura, Toshiaki Sunazuka, "Organocatalytic  $\alpha$ -Addition of Isocyanides to Aldehydes", *Eur. J. Org. Chem.*, 2015, pp, 296-301. 査読あり

〔学会発表〕(計 9件)

井手口哲也、山田健、白畑辰弥、廣瀬友靖、菅原章公、小林義典、大村智、砂塚敏明, "インドリンスピロアミナル骨格を有するNeoxalineの全合成", 第11回次世代を担う有機合成シンポジウム, 2013年05月24日~2013年05月25日, 東京都(日本薬学会会長井記念ホール)

Tetsuya Ideguchi, Takeshi Yamada, Tatsuya Shirahata, Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Yoshinori Kobayashi, Satoshi Omura and Toshiaki Sunazuka, "Asymmetric Total Synthesis of Neoxaline", ICCA-13, 2013年09月24日~2013年09月27日, 山梨県(富士ビューホテル)

Goh Sennari, Tomoyasu Hirose, Masato Iwatsuki, Aki Ishiyama, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Omura, and Toshiaki Sunazuka, "Total synthesis of Puberulic Acid, a potent antimalarial", ICCA-13, 2013年09月24日~2013年09月27日, 山梨県(富士ビューホテル)

廣瀬友靖, "天然物を基盤としたin situ click chemistry", 有機合成化学ミニシンポジウム(招待講演), 2013年12月21日~2013年12月21日, 東京都(北里大学白金キャンパス)

井手口哲也、山田健、白畑辰弥、廣瀬友靖、菅原章公、小林義典、大村智、砂塚敏明, "インドリンスピロアミナル骨格を有するNeoxaline類の全合成", 第105回有機合成シンポジウム, 2014年06月10日~2014年06月11日, 東京都、東京工業大学、大岡山キャンパス

廣瀬友靖, "標的酵素誘導型トリアゾール化を利用した天然物創薬研究", 第15回酵素応用シンポジウム(招待講演), 2014年06月13日, 名古屋市、天野エンザイム(株)慈善ホール

山田健、廣瀬友靖、大村智、砂塚敏明, "有機分子触媒を用いたイソシアニドとアルデヒドの $\alpha$ -付加反応", 有機分子触媒による未来型分子変換、第4回公開シンポジウム, 2014年06月20日~2014年06月21日, 北海道札幌市、北海道大学

廣瀬友靖, "In situクリックケミストリーを利用した高活性キチナーゼ阻害剤の探索研究", 平成26年度大会(第63回)応用糖質科学シンポジウム(招待講演), 2014年09月24日~2014年09月26日, 新潟市、朱鷺メッセ新潟コンベンションホール

廣瀬友靖, "クリックケミストリーにより広がる天然有機化合物の活用", 創薬資源微生物学、寄附講座開設記念シンポジウム(招待講演), 2014年11月08日, 東京都、北里大学 白金キャンパス

〔図書〕(計 2件)

廣瀬友靖、砂塚敏明, 2014年 月刊ファインケミカル2月号, シーエムシー出版  
廣瀬友靖、砂塚敏明, 2014年, クリックケミストリー 基礎から実用まで, シーエムシー出版

〔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

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 : 22790017