

平成 26 年 4 月 28 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2013

課題番号：24658105

研究課題名(和文) 最強レベルの抗癌活性を持つ超微量天然物の立体化学決定に向けた合成化学的アプローチ

研究課題名(英文) Synthetic approach directed toward the determination of the stereochemistry of scarce natural products with potent antimitotic or cytotoxic activity

研究代表者

桑原 重文 (Kawahara, Shigefumi)

東北大学・(連合)農学研究科(研究院)・教授

研究者番号：30170145

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円、(間接経費) 930,000円

研究成果の概要(和文)：前例の無い構造と強力な抗有糸分裂活性を持つ糖脂質であるnigriganoside Aの立体化学を決定するとともに初の全合成達成を目指して、それを構成する2種の酸化型脂肪酸(alpha-鎖とbeta-鎖)の合成を達成するとともに、分子南東部位(beta-鎖右側部分とガラクトシルグリセロールの連結フラグメント)の調製を完了した。また、極めて強力な細胞毒性を持つ26員環マクロリドであるamphidinolide Nの初の全合成に向けて、分子南西部位の調製に成功した。

研究成果の概要(英文)：Toward the determination of the stereochemistry of nigriganoside A, a marine-derived glycolipid bearing an unprecedented structural pattern and a potent antimitotic activity, the synthesis of its highly oxygenated alpha- and beta-fatty acid chains has been accomplished. Its southeastern segment consisting of a galactosyl glycerol unit and the right-hand portion of the beta-chain has also been synthesized. The segment is planned to connect with a northwestern segment of the target molecule by the Julia-Kocienski coupling reaction. Synthetic study on the 26-membered macrolide amphidinolide N has also been undertaken and the preparation of its C7-C13 portion has been completed by using an asymmetric vinylogous Mukaiyama aldol reaction (Kobayashi aldol reaction) as the key step.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：生物生産化学・生物有機化学

キーワード：nigriganoside amphidinolide cytotoxic antimitotic glycolipid macrolide

### 1. 研究開始当初の背景

糖脂質と同じ構成要素(脂肪酸, 糖, グルセロール)を持ちながら, それらが前例の無い様式で結合した **nigricanoside A (1)** は, 稀少海洋性緑藻 *Avrainvillea nigricans* 28 kg から僅か 0.8 mg だけ得られた癌細胞増殖抑制物質である。**1** のジメチルエステル体 (**1-Me**) は各種癌細胞に対して強力な細胞毒性を示す。**1** そのものの活性は評価されていないが, **1-Me** より更に強力な細胞毒性を有することが示唆されていた。**1** は癌細胞の有糸分裂を阻害することが示されているが詳細は不明であり, 高級脂肪酸がエーテル結合で連結した天然物は **1** が初の例であることを考えると, 全く新しい作用メカニズムを持つ可能性も考えられた。このように, 有機化学的にも生理活性の面でも極めて興味深い物質でありながら, 立体化学が不明であり, 天然界からの再単離も困難であるため, **1** に関する研究は全く進展していない状況であった。

一方, **amphidinolide N (2)** は, 海洋性扁形動物ヒラムシに共生する渦鞭毛藻 *Amphidinium* sp. Y-5 の大量培養により得た藻体から立体化学不明のまま極微量単離された化合物であり, 各種癌細胞に対して驚異的細胞毒性を示すことが報告された。合成化学や創薬など, 様々な領域における研究対象として注目されるべき天然物であったが, 詳細な薬理学的研究を実施するために必要な量の **2** を天然から確保することが極めて困難であったこと, 及び, 13 個存在する不斉炭素の立体化学の多くが不明であったため, 有機化学者の合成標的としてもほとんど採り上げられることなく, 関連研究は全く進展していない状況であった。

以上のような状況下, **1** 及び **2** をリードとする新規抗癌剤開発研究を進展させるためには, 合成化学的アプローチにより **1** および **2** の立体化学を決定して合成化学者が合成標的として採用することを促し, その結果として, 両天然物及び類縁体・誘導体の量的供給を実現することが必要であると考えられた。

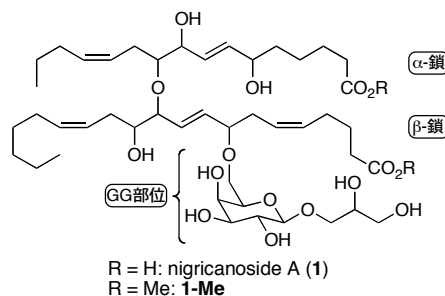
### 2. 研究の目的

培養癌細胞に対する最強レベルの細胞毒性と極めて特異な化学構造を持ちながら, 天然界から極微量しか得られず再単離も難しいこと及び立体化学が未決定であることから, 薬理学者や有機化学者が新規抗癌剤開発に向けた研究に着手できないままとなっている 2 種の天然有機化合物 [**nigricanoside A (1)** 及び **amphidinolide N (2)**] にスポットライトを当て, 両者の立体化学を合成化学的に決定するとともに量的供給を実現することで, 詳細な薬理活性評価や構造活性相関を含めた基礎及び応用研究の端緒を開くことを目的とする。多くの不斉点を有するため理論上可能な立体異性体が多数存在する **1, 2** の立体化学決定に, 一つ一つの立体異性体を一個ずつ選択的に作っていく方法は現実的ではない。

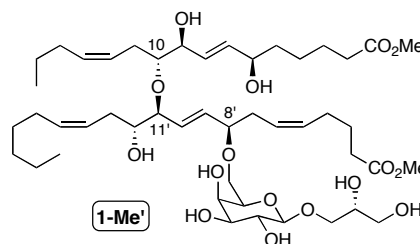
研究課題では, 立体増殖的 (stereoproliferative) 及び部分立体選択的 (partially stereoselective) な合成戦略という, これまでの方法論とは一線を画すアプローチにより, 系統的で迅速, 確実な立体化学決定を目指した。

### 3. 研究の方法

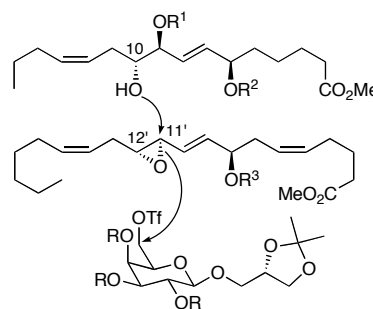
(1) **nigricanoside A (1)** は 2 つの脂肪酸鎖 ( $\alpha$ -鎖と  $\beta$ -鎖) とガラクトシルグリセロール (GG 部位) から成る。



ガラクトース部位 (の相対立体配置) を除いて立体化学は不明であったが, 広範な文献検索を行った結果, 著者は **1-Me** の立体化学を仮に **1-Me'** のように予想した。

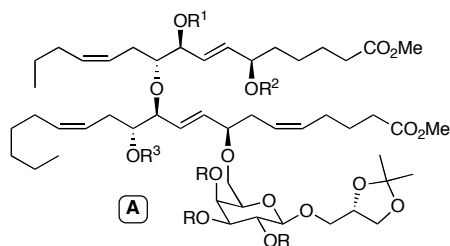


**1-Me'** を合成するための基本的合成戦略として,  $\alpha$ -鎖を調製後, その C10-OH と別途調製した  $\beta$ -鎖エポキシ体誘導体の C11' 位とをエーテル結合を形成させながら繋いで  $\alpha/\beta$ -連結鎖を合成し, 生じた C12'-OH と GG 部位のガラクトース 6 位とをさらに連結するという計画を立てた。

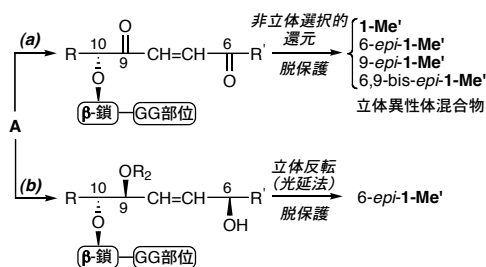


もし, **1-Me'** の NMR データが **1-Me** のそれと一致した場合には, その時点で **nigricanoside A** の立体化学が決まることになるが, もし一致しない場合には, 立体増殖的合成アプローチにより, 立体化学の可能性を絞っていくことを考えた。**1-Me'** はその前駆体である **A** を脱保護することにより合成する計画であるが, **A** の C6 位, C9 位及び C12 位の水酸基はそれぞれ別々の保護基で保護

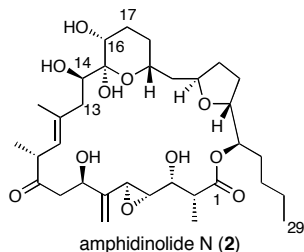
されているため、選択的に脱保護することが可能である。**A** に対し、立体増殖法により各種ジアステレオマーを取得し、その NMR を順次天然物のもとと比較することにより **1-Me** の立体化学の可能性を絞っていく。



例えば、6 位と 9 位を脱保護してジケトンに酸化した後、非立体選択的還元を行うと (下図)、4 種のジアステレオマー混合物が得られるはずである (a 法)。混合物の中に天然物が含まれていれば (NMR 分析で判断可能)  $\beta$ -鎖と GG 部位の立体化学は **1-Me'** に一致すると判断できる。また b 法に示すように、特定の水酸基の立体化学だけを立体選択的に反転させて単一のジアステレオマーを取得することもできる。これらを組み合わせることで、単一の立体異性体 **A** から簡単な変換操作により確実に天然物の立体化学を決定できると考えた。



(2) 13 個の不斉中心を持つ amphidinolide **N** (**2**) については、研究開始時点では立体化学が不明であり、その立体化学を決定するために立体異性体を手当り次第に合成して天然物と比較することは不適切と判断し、部分立体選択的合成という方法論 (不斉点の一部だけを規定して他の不斉点については混合物のまま合成し、生成した数種のジアステレ

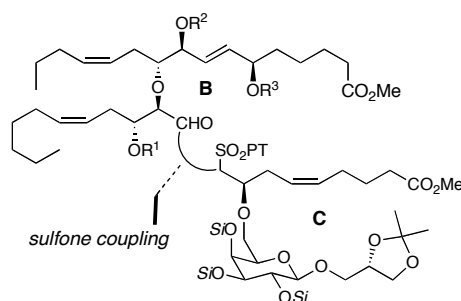


オマーの混合物と天然物の NMR を比較して立体化学を絞り込んでいく方法) を提案して研究を進めていたが、昨年、構造の訂正とともに amphidinolide **N** の全立体化学が報告されるに至り、研究計画の大幅な見直しを行うこととなった。提唱された立体化学の

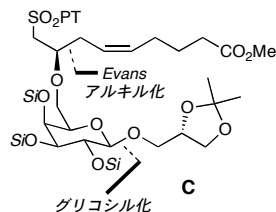
nigricanoside **N** (**2**) を全合成すべく、**2** を C1-C13 セグメント、C14-C16 セグメント、及び C17-C29 セグメントに分割し、それぞれを調製した後に連結する合成経路を立案した。

#### 4. 研究成果

(1) **1-Me'** の合成に関しては、Evans 不斉アルキル化と HWE オレフィン化を經由して、 $\alpha$ -鎖の保護体の調製を完了した。また、同様な手法を用いることで  $\beta$ -鎖誘導体の調製にも成功したが、当初計画した  $\alpha$ -鎖と  $\beta$ -鎖のエーテル結合を介した連結は、様々な反応条件を試みたがいずれも不成功に終わった (立体障害が主原因と思われる)。そのため、合成計画の見直しを行い、**1-Me'** を北西部位 **B** と南東部位 **C** とに分けてそれぞれを調製し、両者を  $\beta$ -鎖の中央部分にある二重結合部分で Julia-Kocienski カップリングにより連結する計画に変更した。



南東部位 **C** については下図に概略を示した方法により、調製をほぼ完了した。

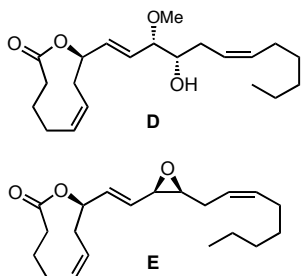


また、北西部位 **B** の調製については、立体障害の小さい合成の初期に  $\alpha$ -鎖左半分と  $\beta$ -鎖の左半部分をエーテル結合であらかじめ連結しておき、その後に  $\alpha$ -鎖の右半部分を結合して **B** を得る合成ルートを考案し、これまでの所、順調に進行している。

(2) amphidinolide **N** (**2**) の合成については、最も合成が困難と思われる C1-C13 セグメントの合成を行っている。不安定なアリルエポキシド部位は合成の最終段階で二重結合を導入することで構築する予定である。現在までに、小林型ピニロガス向山アルドール反応を用いて、C7-C13 部位の調製が完了したところである。

(3) nigricanoside **A** の合成研究に関連して、合成経路の妥当性を検証するとともに、立体増殖的合成アプローチの有効性を確かめるために、 $\alpha$ -鎖及び  $\beta$ -鎖と極めて類似した構造を持つ海産細胞毒性物質である、topsentolide **C**<sub>2</sub>

(D) 及び topsentolide A<sub>2</sub> (E) の合成と立体化学の決定も行った。両者ともに立体化学が不明であったが、nigricanoside A の脂肪酸鎖の合成にも適用可能な方法論を確立するとともに、D については立体増殖的合成アプローチを用いて、簡便・確実に立体化学を決定した。また、E についてもその生成経路の考察から推定した立体異性体を合成したところ、天然物と完全に一致したことから立体化学を決定することに成功した。



#### 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3件)

①Ryo Towada, Shigefumi Kuwahara, Synthesis of topsentolides A<sub>2</sub> and C<sub>2</sub>, and non-enzymatic conversion of the former to the latter. *Tetrahedron*, 査読有, vol. 70, 2014, in press. DOI: 10.1016/j.tet.2014.04.040

②Ryo Towada, Yusuke Kurashina, Shigefumi Kuwahara, Stereochemical assignment of topsentolide C<sub>2</sub> by stereodivergent synthesis of its four diastereomers. *Tetrahedron Lett.*, 査読有, vol. 54, 2013, 6878-6881. DOI: 10.1016/j.tetlet.2013.10.032

③Yusuke Kurashina, Shigefumi Kuwahara, Stereoselective synthesis of a protected form of (6*R*,7*E*,9*S*,10*R*,12*Z*)-6,9,10-trihydroxy-7,12-hexadecadienoic acid. *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 査読有, vol. 76, 2012, 605-607. DOI: 10.1271/bbb.110829

[学会発表] (計3件)

①十和田諒, 倉科友輔, 桑原重文, topsentolide C<sub>2</sub> および A<sub>2</sub> の合成研究, 日本農芸化学会 2014 年度大会, 2014 年 3 月 29 日, 明治大学生田キャンパス.

②倉科友輔, 十和田諒, 桑原重文, Nigricanoside 類の絶対立体配置決定にむけた合成研究, 日本農芸化学会東北支部第 148 回大会, 2013 年 10 月 26 日, 岩手大学農学部.

③十和田諒, 倉科友輔, 桑原重文, 細胞毒性を有する酸化型不飽和脂肪酸ラクトン topsentolide C<sub>2</sub> の合成研究, 日本農芸化学会東北支部第 148 回大会, 2013 年 10 月 26 日, 岩手大学農学部.

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

桑原 重文 (KUWAHARA SHIGEFUMI)

東北大学・大学院農学研究科・教授

研究者番号：30170145