

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 16 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2013

課題番号：24790022

研究課題名(和文)多置換オキサトリシクロウンデカン-マクロライド融合天然物の全合成と構造活性相関

研究課題名(英文) Toward the total synthesis of a hybrid natural product that consists a highly functionalized 11-oxatricycloundecane/macrolide and its structure activity relationships

研究代表者

菅原 章公 (Sugawara, Akihiro)

北里大学・その他の研究科・助教

研究者番号：50581683

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：ルミナミシン(1)は、選択的な抗嫌気性菌活性を示すため、有機合成を用いた全合成と構造活性相関研究は、その創薬展開の基盤になると考えられる。1の全合成経路を達成するために、大環状エノールエーテルマクロライドと三環性酸素結束システカリンに分割し、収束的に中央部の10員環を構築する経路を考案した。

単純な出発原料からシステカリン骨格を構築した。その後、1,6-オキサマイケル反応を行い必要な炭素骨格を揃えた酸素結束システカリン部分の構築に成功した。現在までに、1の必要な官能基を揃えた酸素結束システカリン骨格を構築した報告例は無く、本研究によって1の全合成、構造活性相関研究、創薬展開が期待できる。

研究成果の概要(英文)：Luminamicin (1) was found to exhibit selective antibacterial activity against anaerobic bacteria in 1985. It contains a highly functionalized 11-oxatricycloundecane, associated with a 10-membered lactone moiety which possesses a (E)-trisubstituted olefin and a 14-membered macrolactone, with an enol ether conjugated with a maleic anhydride functionality.

We have been focusing on its total synthesis due to its intriguing structure and interesting biological activity. We synthesized a framework of the key intermediate from the unsaturated aldehyde via intramolecular 1,6-oxa-Michael reaction and stereoselective protonation at C4 position. Study toward the total synthesis of 1 is in progress in our laboratory.

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：ルミナミシン 抗嫌気性菌活性 全合成 11-オキサトリシクロウンデカン 酸素架橋システカリン マクロライド 構造活性相関 高歪み10員環ラクトン

## 1. 研究開始当初の背景

ルミナミシン (1)は北里研究所の大村らによって、*Streptomyces* sp. OMR-59 株の培養液から抗嫌気性菌活性を示す新規天然物として見出された (図 1)(*J. Antibiot.* **1985**, 38, 1322)。

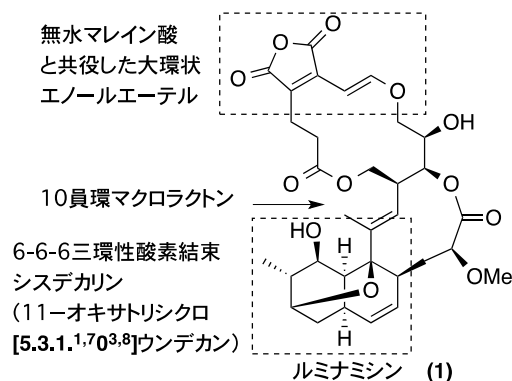


図1 ルミナミシン(1)の構造式

さらに、1の絶対構造は当研究室で Mosher 法と計算科学の方法に基づき決定した (*Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **2005**, 102, 18286)。一方で、標的となるグラム陽性の偏性嫌気性菌 *Clostridium difficile* (クロストリジウム属)は抗生物質による治療で腸の常在菌のバランスが崩れた際に異常増殖し、偽膜性大腸炎や中毒性巨大結腸症などを引き起こすため、ここ数年の間に大変危険な菌として警戒されている。現在これらの対処法として塩酸バンコマイシンの経口投与が行われているが、近年の耐性菌出現などの問題から、それに代わる新たな抗嫌気性菌薬の開発が期待されている。顕著な例として、RNA ポリメラーゼ阻害剤であるフィダキソマイシンが、2011年アメリカFDAにおいて *C. difficile* 感染治療薬として承認された。このことから明白なように、*C. difficile* 感染治療薬の社会的ニーズは高まっており、将来日本においてもこの病原菌が問題となると予想される。

本研究の標的天然物 1 は、*C. difficile* に対して選択的な活性を示すことが判明しており、1の有機合成を用いた全合成と構造活性相関解明は、その創薬展開の大きなドライブングフォースになると期待できる。

## 2. 研究の目的

一方、1は1985年に単離、報告されて以来、その全合成は国内外で一例も報告され

ていない。その理由の一つとして、1の他に類を見ない複雑かつ特異な構造に起因していると考えられる (図1)。

即ち、1は(1) 14員環ラクトン内の無水マレイン酸と共役したエノールエーテル、(2) 6-6-6三環性酸素結束シスデカリン骨格(11-オキサトリシクロ[5.3.1.1.7.0<sup>3,8</sup>]ウンデカン)、(3) これら二つのユニットを結ぶ3置換オレフィンを含む高歪みな10員環ラクトン、の極めてユニークな構造を有している。加えて、その部分構造である無水マレイン酸の共役エノールエーテルを含む大環状ラクトン及びその類縁体は現在までに合成報告例はない。従って、その全合成達成には、既存の反応の単純な組み合わせだけでは困難が予想され、新たな方法論や効率的な合成経路の開拓が必要となる。このように1は有機合成化学上、非常に興味深い化合物のみならず、前述した大変興味深い生理活性も有することから、研究対象として魅力的である。

更に、シスデカリン部分はナルゲニン、ノダスミン等の天然物と類似しており、それらは抗好気性菌活性を有していることが報告されているにもかかわらず、1に抗好気性菌活性は無く、抗嫌気性菌活性のみを有するためその活性の差異に非常に興味を持たれる。

以上のことから、本研究の目的は、1の全合成を基盤とした新規抗嫌気性菌薬(クロストリジウム属の選択的抗菌剤)の創製と、1がシスデカリン部分の類似天然物の活性とは全く異なる活性を示す機構の解明を目指す。

## 3. 研究の方法

目的遂行のために、以下の3つの研究計画を立案した。(1) 構造的特徴を生かした分子骨格構築法を確立し全合成を行う。(大環状エノールエーテルマクロライド; フラグメント2に関しては、合成が完了した。) (2) 天然物1を分解することにより全合成過程では得られないユニークな分子を構築し、その活性評価を行う。(3) 天然物1を直接誘導化し、その活性評価を行う。最終的にこれらの情報を基に、優れた薬剤の創製を行う。

まず、全ての基盤となる1の効率的かつ

誘導化が可能になる全合成経路の確立を目指した。即ち、大環状エノールエーテルマクロライド 2 と三環性酸素結束シスデカリン 3 に分割し、合成後半に収束に中央部の 10 員環を構築する経路を考案した。

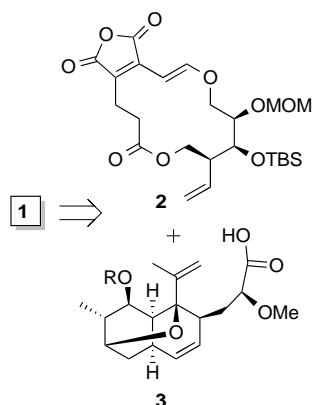
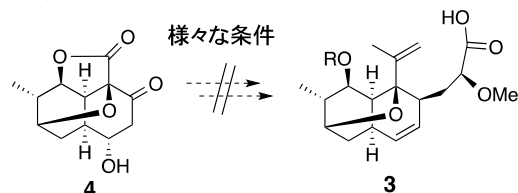


図 2 ルミナミシンの逆合成解析

#### 4. 研究成果

現在までに研究代表者は、論文未公開ではあるが、以下二点の鍵フラグメントの合成を達成した。(1) 無水マレイン酸の合成等価体である鍵中間体 2 の合成 (学会で発表済み)、(2) 3 の基本骨格であり鍵化合物の 11-オキサトリシクロ[5.3.1.1<sup>7,0</sup>3,8]ウンデカン 4 の合成 (学会で発表済み)。しかしながら、更なる検討の結果、1 の全合成、誘導体合成達成に向けて克服すべき様々な課題が判明した。特に、3 の合成に関して、当初 4 からラクトンの開裂及び金属カップリングによる側鎖の導入を経て 3 へと導けると考えていたが、いったん 4 の骨格を構築すると、先に挙げた所望の化学変換を含む様々な反応が進行しなくなることが判明した。この理由として、高度に歪んだ 11-オキサトリシクロ[5.3.1.1<sup>7,0</sup>3,8]ウンデカン骨格の影響により立体障害が生じると考察した。



問題点:

- ① 4 のラクトンの開環が起こらない。
- ② 4 のケトンをも十分に、トリフラート化し、金属カップリングで側鎖の導入を行うことが出来ない。

図 3 化合物 4 の問題点

以上のことから、これらの問題点の解決策として、フラグメント 3 の新規合成経路を立案した。合成のポイントとして、全ての炭素骨格を揃えた後、合成後半に酸素架橋エーテルを構築することで分子の歪みが起因する問題点を解決できると考えた。即ち、3 は合成終盤に適切な官能基を揃えた共役アルデヒド 5 の 1,6-oxa-Michael 反応により鍵となる架橋部分の構築を行うことで導けるとし、5 は三環性化合物 6 から側鎖の導入、ラクトン部分の開環を順次行うことで合成できると考えた。

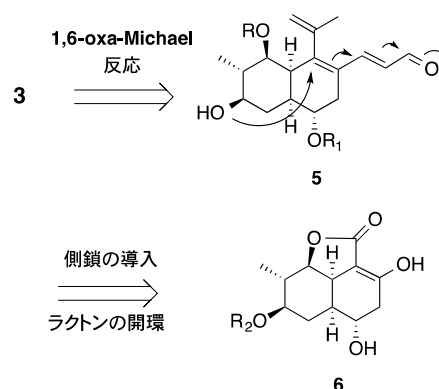


図 4 3 の新たな逆合成解析

まず、得られた 7 に対しエノール選択的なトリフラート化を行い、続けて別途調製した側鎖部分を Stille カップリングで導入した (化合物 8、図 5)。その後 BOMCl を用いて二級水酸基の保護を行い 9 へと導いた。まず、3 のエキソオレフィン部分を最短で構築する方法として MeLi を用いたラクトンの開環に続く、炭素ユニットの導入を試みたが、目的物を得ることができなかった。これは 9 が立体障害の大きい三環性のラクトンであるため求核種が近づきにくいと考えた。この結果からエキソオレフィンの炭素ユニットの直接的な導入を断念し、まずより立体障害の小さいヒドリドによる開環を行うこととした。その結果、9 に対して LiAlH<sub>4</sub> を用いたところラクトン部分が開環したジオール体を得ることができた。得られたジオール体に対し PivCl を用いて一級アルコール選択的に保護を行い 10 を 2 工程収率 62% で得た。次に MEMCl による二級水酸基の保護を行い、TBS 基の除去続く、DDQ を用いた PMB 基の除去と同時にアリルアルコールの酸化を行うと

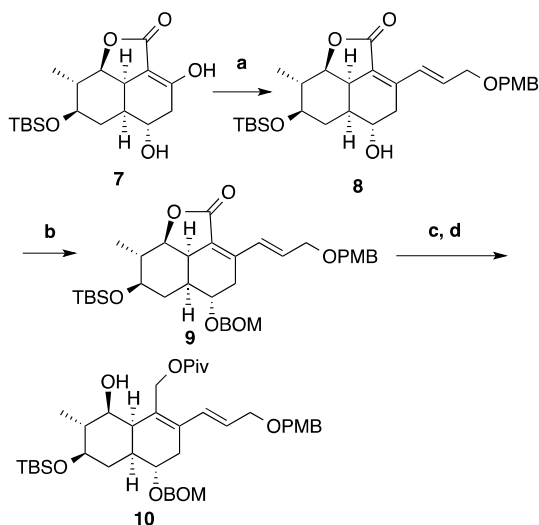


図 5 Reagents and conditions; a) 1)  $\text{Tf}_2\text{O}$ ,  $\text{Et}_3\text{N}$ ,  $\text{DCM}$ ,  $-78^\circ\text{C}$ , 2)  $\text{PMBOCH}_2\text{CHCHSn}(n\text{-Bu})_3$ ,  $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$ ,  $\text{LiCl}$ ,  $\text{DMF}$ ,  $80^\circ\text{C}$ , 92 % over 2 steps, b)  $\text{BOMCl}$ ,  $\text{DIPEA}$ ,  $\text{DCM}$ ,  $0^\circ\text{C}$  to rt, 91%, c)  $\text{LiAlH}_4$ ,  $\text{THF}$ ,  $0^\circ\text{C}$ , d)  $\text{PivCl}$ ,  $\text{pyridine}$ ,  $\text{DCM}$ ,  $0^\circ\text{C}$  62 % over 2 steps

同時にアリルアルコールの酸化を行うことで架橋前駆体である共役アルデヒド **11** とした。次に鍵となる 1,6-oxa-Michael 反応による架橋形成検討を行った (図 6)。

検討を行うにあたり次のような二つのことに注目した。第一に本反応が完結するにはシステカリン部分が通常不利とされる舟形遷移状態をとる必要があるためアルデヒド部分の活性化が重要になること。第二にレトロ Michael 反応が容易に起こることが予測されるため架橋形成後にエノラートとして補足する必要があると考えた。

まず、シリル系のルイス酸である TBSOTf

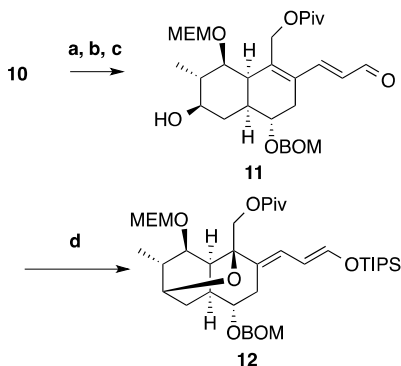
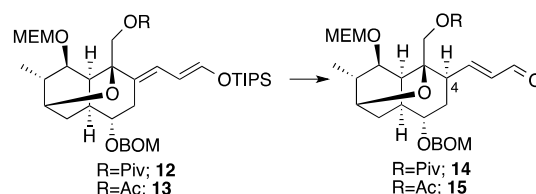


図 6 Reagents and conditions; a)  $\text{MEMCl}$ ,  $\text{DIPEA}$ ,  $\text{DCM}$ ,  $0^\circ\text{C}$  to rt, 85%, b)  $\text{TBAF}$ ,  $\text{THF}$ , reflux, 98%, c)  $\text{DDQ}$ ,  $\text{DCM}/\text{pH 7.2 buffer}$ ,  $0^\circ\text{C}$  to rt, 98% d)  $\text{TIPSOTf}$ ,  $\text{DIPEA}$ ,  $\text{DCM}$ , rt, 98 %

を用いた。しかしながら、望みの架橋体は形成されず二級水酸基が TBS 化された化合物が得られてきた。そこで、さらに嵩高い TIPSOTf を用いたところと 2 級水酸基がシリル化されることなく架橋を形成したシリルエノール **12** を 98% の高収率で得ることができた。以上のことから本反応が完結するには適切にカルボニルを活性化し、かつ 2 級水酸基部分に近づきにくい嵩高さを持つ活性化剤の存在が必要になると考えられる。

次いで、脱シリル化に伴う C4 位の立体選択的なプロトン化を試みた。これによって 3 の骨格の立体化学を全て制御できる。種々条件検討の結果 (表 1)、脱シリル化剤として TASF が最も良い結果を与えた。R に Piv 基を導入した際には、収率 21%、選択性 (4 位プロトン) が 2:1 ( $\beta:\alpha$ ) と満足のいく結果ではなかった。これは、Piv 基による立体障害が影響して、プロトン化の際の立体選択性が発現していないと考えた。そこで、Piv 基をより立体障害の少ない Ac 基に変換した化合物 **13** で同様の実験を試みた。その結果、収率は 35% と満足のいく結果ではなかったが、選択性 (4 位プロトン) を 9:1 ( $\beta:\alpha$ ) まで向上させることに成功した。

表 1 脱シリル化に伴う C4 位の立体選択的なプロトン化の検討



Entry	R	Yield	Ratio
			$\beta:\alpha$
1	Piv	21%	2:1
2	Ac	35%	9:1

Reagents and conditions; TASF,  $\text{THF}$ ,  $0^\circ\text{C}$

以上述べてきたように、研究代表者は、1 の全合成達成のために、フラグメント 3 の合成に取り組んだ。その結果、鍵中間体 3 の必要な官能基を揃えた骨格の構築に成功した。この結果は、1 の全合成に必要な骨格を揃えられただけで無く、部分骨格の構造活性相関研究などにも用いることがで

き、今後天然物の単純化アナログなどに繋がると期待できる。現在、1の全合成に向けて検討を行っているところである。

#### 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6件)

1) Tomoyasu Hirose, Nobuo Maita, Hiroaki Gouda, Jun Koseki, Tsuyoshi Yamamoto, Akihiro Sugawara, Hirofumi Nakano, Shuichi Hirono, Kazuro Shiomi, Takeshi Watanabe, Hisaaki Taniguchi, K. Barry Sharpless, Satoshi Ōmura, 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*, **2013**, *110*, 15892-15897, DOI:10.1073/pnas.1315049110

2) 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.*, **2013**, *135*, 12568-12571. DOI: 10.1021/ja406657v

3) Masaki Wakasugi, Hiroaki Gouda, Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Tsuyoshi Yamamoto, Kazuro Shiomi, Toshiaki Sunazuka, Satoshi Omura, Shuichi Hirono, "Human acidic mammalian chitinase as a novel target for anti-asthma drug design using in silico screening" *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, *21*, 3214-3220, DOI:10.1016/j.bmc.2013.03.047

4) Akihiro Sugawara, Toshiaki Tanaka, Tomoyasu Hirose, Aki Ishiyama, Yoko Takahashi, Kazuhiko Otaguro, Satoshi Omura, Toshiaki Sunazuka "Borrelidin analogues with antimalarial activity: design, synthesis and biological evaluation against Plasmodium falciparum parasites" *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2013**, *23*, 2302-2305. DOI: 10.1016/j.bmcl.2013.02.075

5) Akihiro Sugawara, Akito Sueki, Tomoyasu Hirose, Hideaki Shima, Kiyoko S Akagawa, Satoshi Ōmura and Toshiaki Sunazuka "Novel

12-membered non-antibiotic macrolides, EM900 series with anti-inflammatory and/or immunomodulatory activity; synthesis, structure-activity relationships and in vivo study" *J. Antibiot.* **2012**, *65*, 487-490. DOI:10.1038/ja.2012.51

6) Aoi Kimishima, Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Takanori Matsumaru, Kaoru Nakamura, Ken Katsuyama, Masaki Toda, Hirokazu Takada, Rokuro Masuma, Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka "Toward the total synthesis of Luminamicin: construction of 14-membered lactone framework possessing versatile enol ether moiety" *Tetrahedron Lett.*, **2012**, *53*, 2813-2816, DOI:10.1016/j.tetlet.2012.03.098,

〔学会発表〕(計3件)

1) Hirokazu Takada, Akihiro Sugawara, Tomoyasu Hirose, Aoi Kimishima, Takanori Matsumaru, Masaki Toda, Takeshi Yamada, Satoshi Ōmura and Toshiaki Sunazuka "Toward the total synthesis of Luminamicin; construction of 14-membered macrolide with enol ether conjugated with a maleic anhydride" ICCA-13, 2013/09/24-27、山梨県(富士ビューホテル)

2) Aoi Kimishima, Akihiro Sugawara, Tomoyasu Hirose, Hirokazu Takada, Takanori Matsumaru, Satoshi Ōmura and Toshiaki Sunazuka "Toward the total synthesis of Luminamicin; construction of 11-oxatricyclo[5.3.1.<sup>1,7</sup>0<sup>3,8</sup>]undecane skeleton" ICCA-13, 2013/09/24-27、山梨県(富士ビューホテル)

3) Akihiro Sugawara, Aoi Kimishima, Hirokazu Takada, Tomoyasu Hirose, Takanori Matsumaru, Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka "Toward the total synthesis of Luminamicin, a specific anti-anaerobic bactericide" Annual Meeting of the American Society of Pharmacognosy, 2013/07/13-18, USA (St. Louis)

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況（計 0 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://seibutuyuuki.sakura.ne.jp/>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

菅原章公 （SUGAWARA AKIHIRO）

北里大学・大学院感染制御科学府・助教

研究者番号：50581683