

平成 30 年 6 月 9 日現在

機関番号：11401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01794

研究課題名(和文) 緑藻由来ニグリカノシド類の有糸分裂阻害活性の最小基本構造の解明を目指す全合成研究

研究課題名(英文) Studies toward total synthesis of nigricanosides, anti-mitotic agents from a marine green alga, aiming at the elucidation of the pharmacophore

研究代表者

藤原 憲秀 (Kenshu, Fujiwara)

秋田大学・理工学研究科・教授

研究者番号：20222268

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円

研究成果の概要(和文)：緑藻の一種が生産するニグリカノシド類は、がん細胞の有糸分裂を強力に抑制することが報告された、エーテル結合型(酸素原子で結び付けられた)糖脂質である。2015年に決定された絶対立体配置を基に、効率的な収束全合成を計画した。ニグリカノシド類の構造上の特徴であるエーテル相互結合構造と二つのエーテル結合に挟まれた炭素-炭素二重結合について、それぞれ立体選択的構築法を開拓した。さらに、ニグリカノシド類を左右に分割して合成を進め、右側部分構造の合成経路も概ね確立できた。

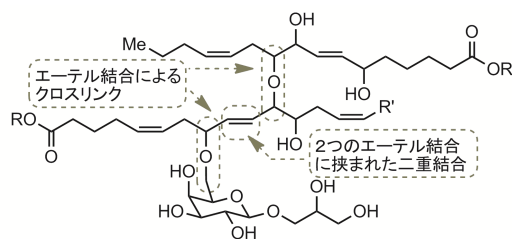
研究成果の概要(英文)：Nigricanosides, isolated from the green alga *Avrainvillea nigricans*, belong to a monogalactosyldiacylglycerol family and were reported to exhibit potent growth inhibition against cancer cells due to their anti-mitotic activity. Based on the absolute stereochemistry of nigricanoside A dimethyl ester elucidated by Ready and coworkers in 2015, a new convergent total synthesis of the compound was planned to realize the efficient supply. So far, the ether-cross-linkages between the upper and the lower fatty acid chains and between the lower fatty acid chain and the galactose moiety have been constructed based on chirality transferring Ireland-Claisen rearrangement. A prototype synthetic route to the right-half segment of nigricanoside A dimethyl ester has also been developed. Furthermore, a construction method for the C9'-C10' double bond has been developed by use of model compounds having ether bonds adjacent to the reaction centers.

研究分野：天然物合成化学

キーワード：全合成研究 クライゼン転位 鎖状エーテル 有糸分裂阻害剤 1,4-ジアルコキシ-2-ブテン ヘンリー反応 ラジカル脱離反応 立体選択的合成

1. 研究開始当初の背景

緑藻由来の糖脂質のニグリカノシド類(図1)は、強力な有糸分裂阻害活性と新規で特異なエーテルクロスリンク型化学構造を持つため、薬剤耐性を克服しうる新たな抗癌剤のリードとして強く期待された(引用文献)。一方、緑藻による産生量が低く物質供給に難があり、当初は立体化学も未解明のため、詳細な生物活性の研究が停滞していた。申請者は、「立体化学と生物活性基本構の解明」を目的として、ニグリカノシド類の様々な部分構造を立体化学が明確な形で合成し、天然物とのスペクトル比較と生物活性評価を行うことを計画した。さらに、ニグリカノシド類の「全合成による物質供給の実現」に向けた研究展開を計画した。なお、エーテルクロスリンク部の立体選択的構築法とエーテル結合部間の炭素-炭素二重結合形成法の開発が本研究達成上の鍵となるため、優先的に検討することとしていた。そのため、当申請課題の前段階の研究として、ガラクトース部と下部脂肪酸鎖のエーテルクロスリンク部の立体選択的構築法を開拓していた(引用文献)。



ニグリカノシドA: R=H, R'=-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃
 ニグリカノシドA ジメチルエステル: R=Me, R'=-CH₂CH₂CH₂CH₂CH₃
 ニグリカノシドB: R=H, R'=-Z-CH₂CH=CHCH₂CH₃

図1 ニグリカノシド類の平面構造

当研究課題開始当初は合成化学を基盤として、ニグリカノシドA ジメチルエステルの絶対配置の効率決定を計画していた。しかし、この研究の途上、Readyらにより同化合物の全合成が達成され、同時に絶対立体配置も解明された(引用文献)(図2)。しかし、その合成法は多段階を要し合成供給にはまだ効率化が必要な状況である。申請者は、独自に別経路での同化合物の全合成方法を考案していたため、Readyによって提出された絶対立体構造を標的とした効率全合成の達成を目指す計画とした。

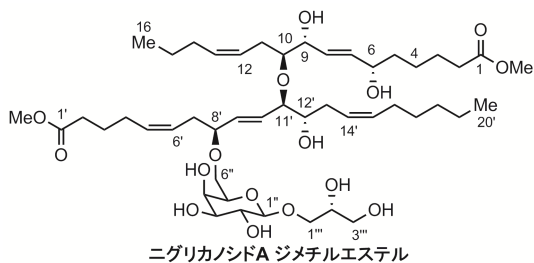


図2 Readyにより報告されたニグリカノシドA ジメチルエステルの絶対立体配置

<引用文献>

D. E. Williams, C. M. Sturgeon, M. Roberge, R. J. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.* **2007**, *129*, (18), 5822-5823.
 N. Kinashi, K. Fujiwara, T. Tsunoda, R. Katoono, H. Kawai, T. Suzuki, *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, (34), 4564-4567.
 J. Chen, P. Koswatta, J. R. Debergh, P. Fu, E. Pan, J. B. Macmillan, J. M. Ready, *Chem. Sci.* **2015**, *6*, (5), 2932.

2. 研究の目的

ニグリカノシド類の「全合成による物質供給の実現」を目的に研究展開する。Readyによって提出されたニグリカノシドA ジメチルエステルの絶対立体配置を標的とした効率全合成経路を確立する。

具体的には、下部脂肪酸鎖のC9'-C10'位の2つのエーテル結合に挟まれた二重結合部分で2つのセグメントに分割して、それぞれのセグメントを効率的かつ立体選択的に合成した後、C9'-C10'位の二重結合部分を構築しつつ全体を結びつける方法で全合成する(図3)。

この経路の実現のため鍵となる、上部と下部の脂肪酸鎖間のエーテルクロスリンク部の立体選択的構築法とエーテル結合部間のC9'-C10'位炭素-炭素二重結合形成法を開発する。

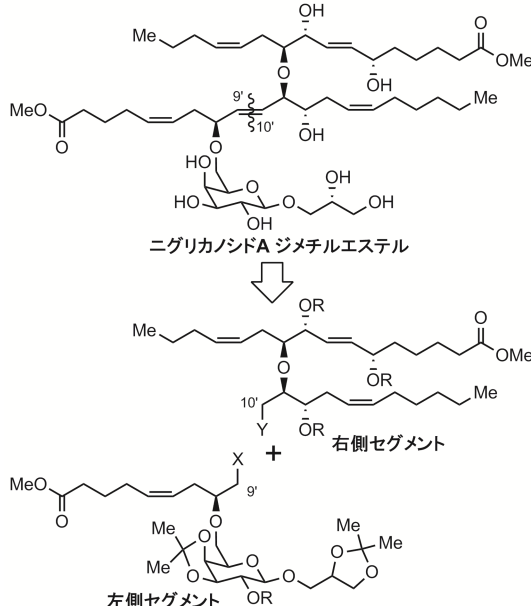


図3 目的とする合成経路

3. 研究の方法

目的完遂までの研究方法を以下(1)~(4)に示す。当初の段階で(1)は既に解決していたため、本課題研究では、(2)と(3)について重点的に検討した。一部(4)についても検討している。

(1)ニグリカノシド類のガラクトース部と下部脂肪酸鎖部間のエーテルクロスリンク構造の立体選択的構築法を、不斉転写型 Ireland-Claisen 転位反応を基盤として確立

する。

(2)ニグリカノシド類の上部と下部の脂肪酸鎖間のエーテルクロスリンク構造の立体選択的構築法を、(1)と統一した方法論として、不斉転写型 Ireland-Claisen 転位反応を基盤として確立する。

(3)エーテル結合部間の炭素-炭素二重結合 (C9'=C10') の形成には、これまでに有効な方法が存在しないため、新たな方法を確立する。

(4)上記(1)(2)で確立した方法を駆使してニグリカノシド A ジメチルエステル左右のセグメントを合成し、(3)の方法で全体を結び付けて、ニグリカノシド A ジメチルエステルの全合成を完了する。Ready による絶対立体配置が正しいこと、生物活性の有無を第三者として検証する。

4. 研究成果

(1)ニグリカノシド類の上部と下部の脂肪酸鎖間のエーテルクロスリンク構造の立体選択的構築法の検討に際し、図4に示す方法を考案した。すなわち、下部脂肪酸鎖の C11' と C12' を天然型 (Ready の提出した立体配置) に固定し、上部脂肪酸鎖の C10 位の立体中心の構築と C11~C16 位の炭素鎖導入を不斉転写型 Ireland-Claisen 転位反応で導入することにした。

なお、この経路は、先行研究 (平成 24 年度 ~ 26 年度基盤研究 (C), 課題番号: 24510289) においても検討しているが、本課題研究においては再現性の良い反応条件を精査して、確実な立体選択的構築法を確立している。

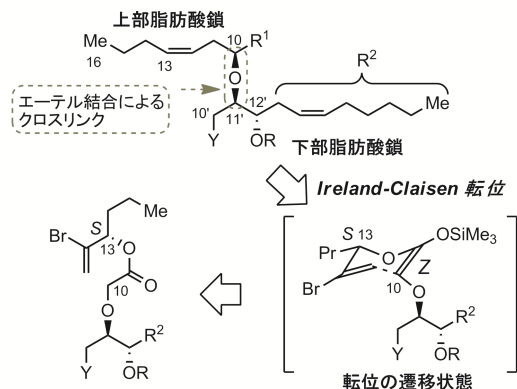


図4 上部と下部の脂肪酸鎖間のエーテルクロスリンク構造の立体選択的構築法

不斉転写の基となる光学活性なプロモアリルアルコール (S)-1 は、リパーゼを用いる速度論的光学分割法を用い、高い光学純度で合成する事ができた (図5)。

下部脂肪酸鎖部に相当する部分 2 は、2-デオキシ-D-リボースを用いて 5 段階で簡便に合成できた。

(S)-1 と 2 を縮合した後に、得られた 3 を Ireland-Claisen 転位条件に付し、生成物をメチルエステルまたは Weinreb アミドに変換

すると、それぞれ良好な収率で単一の立体異性体として C10 位に目的の立体化学を持つ生成物 4 または 5 を与えた。

このように、不斉転写型 Ireland-Claisen 転位を基盤として、ニグリカノシド類の上部と下部の脂肪酸鎖間のエーテルクロスリンク構造の立体選択的構築法を開発することができた。

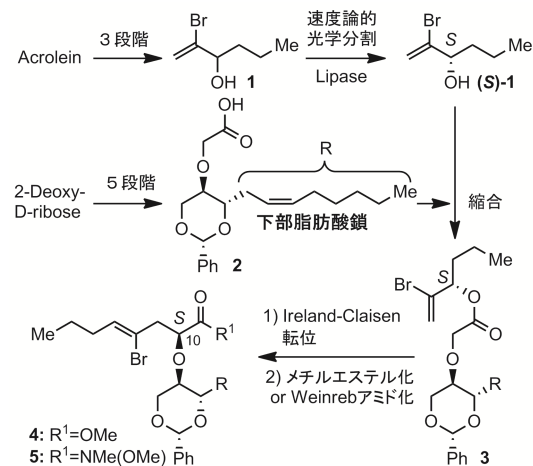


図5 不斉転写型 Ireland-Claisen 転位によるエーテルクロスリンク構造の構築

(2)エーテル結合部間の炭素-炭素二重結合 (C9'=C10') の形成については、オレフィンクロスメタセシスとアニオンカップリング/脱離反応の2つが候補になった。しかし、前者はニグリカノシド A ジメチルエステル中に多くの二重結合を含み閉環メタセシスが副反応として懸念されたことから不採用とした。そこで後者を検討したが、アニオンカップリングの段階で、隣接するエーテル基の脱離を抑制する必要があった。そのため、モデル化合物でアニオンの安定化置換基と反応条件を検討し、強い電子求引基であるニトロ基を利用した Henry 反応がカップリングに有効であることを見出し、隣接エーテル基を脱離させることなく、アルデヒドとの結合が可能となった (図6)。

続く、カップリング生成物の -ニトロアルコールからのニトロ基と水酸基の脱離反応の実現は問題が多かった。 -ニトロアルコールの水酸基をラジカル脱離能の高い官能基に変換する必要があったが、通常行われる塩基性条件でのチオカルボニル誘導体化反応では、retro-Henry 反応による -ニトロアルコールの分解が顕著となるため、目的物は得られなかった。種々条件検討の末、DMF 中で塩化チオニルのみ、または 2 当量までのピリジン存在下で短時間加熱する条件で水酸基を塩素に変換できた。その -クロロニトロ化合物は、AIBN/Bu₃SnH によるラジカル反応条件で脱離が進行して、炭素-炭素二重結合を生成することが判った。また、 -ニトロアルコールをチオカルボニルジイミダゾールとともにトルエン中で加熱した後、水溶性成分を除去して、AIBN/Bu₃SnH の条件に

付すと、脱離が進行して低収率ながら安定して炭素-炭素二重結合を生成することも判った。これら2つのラジカル脱離反応は相補的に利用可能と思われる。

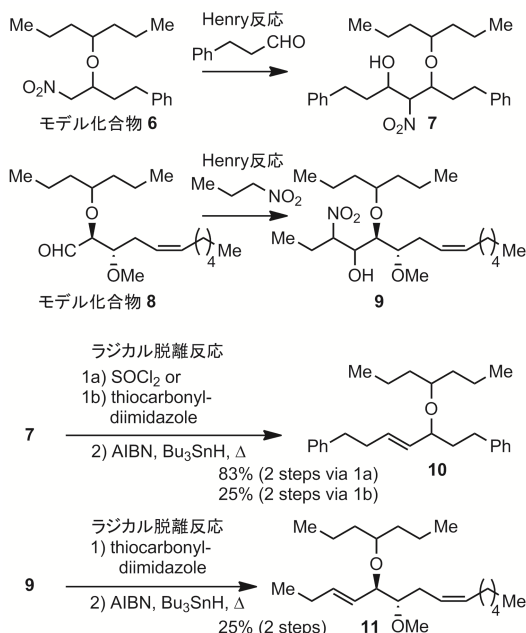


図6 アニオンカップリング/脱離反応によるエーテル結合部間の炭素-炭素二重結合の形成のモデル検討

このように、隣接するエーテル基を持つモデル化合物を用いて、Henry 反応とラジカル脱離反応による炭素-炭素二重結合形成条件を開発することができた。

(3)ニグリカノシド A ジメチルエステルの全合成に向けて、セグメントの合成を検討した。

左側セグメントは先行研究(平成21年度~23年度基盤研究(C), 課題番号:21510218)において合成経路が開拓されている。本課題研究では、右側セグメントについて、先の化合物5からの変換経路を検討した。

この経路においても、先行研究(平成24年度~26年度基盤研究(C), 課題番号:24510289)の検討結果を基礎に置いているが、本課題研究においては反応条件を精査して、再現性の良い方法を見出している。

この変換では、上部脂肪酸鎖のC1~C8の炭素鎖部分を化合物5に導入しようと計画した。C1~C8にはC6位の立体中心とC7-C8位のトランス二重結合が存在するため、これらの立体選択的構築を考慮する必要があった。そこで、トランス二重結合をアセチレンの部分還元で構築することにし、天然型のC6位の立体化学はジアステレオマー法による光学分割で得ようと考えた。

-カプロラク톤を出発物として4段階でラセミ体のプロパルギルアルコール12を得た後、池上の光学分割剤13を用いると、シリカゲル HPLCによりそれぞれのジアステレオマーを分割できた(図7)

本研究では、非天然型のR体のプロパルギルアルコール誘導体(R)-14を用いて上部脂肪酸鎖の伸長を行い、C9位の立体中心はジアステレオマー混合物のままとなったものの、トランス二重結合はLiAlH₄を用いて構築できた。これにより、右側セグメントの構成要素をすべて含む化合物が合成できた。今後、本経路を利用すれば、正しい立体化学の右側セグメントの合成も可能と期待される。

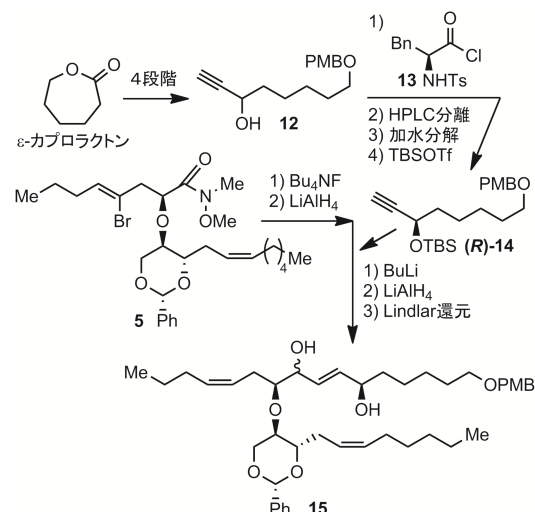


図7 右側セグメント合成を目指した化合物5の変換経路

以上のように本課題研究では、ニグリカノシド類の「全合成による物質供給の実現」を目的に研究展開し、Readyによって提出されたニグリカノシドAジメチルエステルの絶対立体配置を標的とした効率全合成経路の確立を検討した。不斉転写型 Ireland-Claisen 転位を基盤として、天然型の立体化学を持つ上部と下部の脂肪酸鎖間のエーテルクロスリンク部の立体選択的構築方法を確立した。また、全合成の最終段階となる、エーテル結合部間の炭素-炭素二重結合(C9'=C10')の形成法を、モデル化合物を用いて検討し、Henry 反応とラジカル脱離反応の組み合わせが有効であることを見出した。さらに、全合成に向けてセグメント合成を検討した。以上の結果は、ニグリカノシド類の全合成の基盤であり、効率的な物質供給の実現に向けて道を拓くと期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計3件)

- (1) Takayuki Tsunoda, Kenshu Fujiwara, Satoshi Okamoto, Yoshihiko Kondo, Uichi Akiba, Yusuke Ishigaki, Ryo Katoono, Takanori Suzuki, "Double bond formation based on nitroaldol reaction and radical elimination: a prototype segment connection method for the total synthesis of nigricanoside A dimethyl ester", *Tetrahedron Lett.*, **2018**, 59, (19), 1846-1850, 査読有.
DOI: 10.1016/j.tetlet.2018.03.091

- (2) Takafumi Saito, Kenshu Fujiwara, Yusuke Sano, Takuto Sato, Yoshihiko Kondo, Uichi Akiba, Yusuke Ishigaki, Ryo Katoono, Takanori Suzuki, "An improved synthesis of the C42-C52 segment of ciguatoxin 3C", *Tetrahedron Lett.*, **2018**, *59*, (14), 1372-1376, 査読有.
DOI: 10.1016/j.tetlet.2018.02.052
- (3) Takuto Sato, Kenshu Fujiwara, Keisuke Nogoshi, Akiyoshi Goto, Daisuke Domon, Natsumi Kawamura, Yoshitaka Nomura, Daisuke Sato, Hideki Tanaka, Akio Murai, Yoshihiko Kondo, Uichi Akiba, Ryo Katoono, Hidetoshi Kawai, Takanori Suzuki, "Synthesis of the ABCDEF-ring of ciguatoxin 3C", *Tetrahedron*, **2017**, *73*, (6), 703-726, 査読有.
DOI: 10.1016/j.tet.2016.12.041

〔学会発表〕(計3件)

- (1) 藤原憲秀, 「エーテル結合を有するグリセロ糖脂質天然物ニグリカノシドAの全合成研究」, 平成29年度化学系協会東北大会 講演予稿集 16D2, 2017年9月16日, 岩手大学, 盛岡
- (2) 角田隆幸, 藤原憲秀, 岡本啓, 近藤良彦, 秋葉宇一, 上遠野亮, 鈴木孝紀, 「ニグリカノシドAの収束的合成に向けたセグメント連結の検討」, 日本化学会第97春季年会 講演要旨集 3C6-38, 2017年3月18日, 慶應義塾大学日吉キャンパス, 横浜
- (3) Takayuki Tsunoda, Kenshu Fujiwara, Satoshi Okamoto, Yuse Kuriyama, Wataru Nojo, Naoto Kinashi, Ryo Katoono, Takanori Suzuki, "Studies toward total synthesis of nigricanoside-A and determination of its absolute stereochemistry", 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Abstract Book 2606, 2015年12月19日, Honolulu, USA.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

藤原 憲秀 (FUJIWARA, KENSHU)
秋田大学・大学院理工学研究科・教授
研究者番号: 20222268

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

角田 隆幸 (TSUNODA, Takayuki)