

## 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：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25860010

研究課題名(和文) インドリンスピロアミナル骨格を有するネオキサリン類の効率的合成と創薬研究

研究課題名(英文) Total synthesis of indole alkaloids containing an indoline spiroaminal framework and evaluation of their anti-infectious activity

研究代表者

山田 健 (Yamada, Takeshi)

北里大学・大学院感染制御科学府・助教

研究者番号：00608367

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：3a-ヒドロキシフロインドリンの不斉を利用したリバースプレニル基の立体選択的導入、適した位置に窒素原子を有するインドリンのニトロンの酸化を経由したインドリンスピロアミナル骨格構築およびイミダゾールを利用したE選択的なデヒドロヒスチジンの構築を鍵にネオキサリンの初の全合成を達成し、その絶対構造を明らかとした。本合成経路を基に類縁天然物であるメリアグリンA、グランジコリンAおよびオキサリンの初の全合成を達成した。合成したネオキサリン類および、その合成中間体の抗感染症活性を調べたところ、合成中間体がアフリカ睡眠病の起因寄生虫であるトリパノソーマに対し、殺原虫活性を示すことを初めて明らかとした。

研究成果の概要(英文)：Total synthesis of the indole alkaloids, neoxaline, oxaline and meleagrins A, all containing a unique indoline spiroaminal framework was accomplished through the stereoselective introduction of a reverse-prenyl group to the congesting benzylic carbon of furoindoline, 2-pot transformation of indoline, containing three nitrogen atoms at appropriate positions, to the featured indoline spiroaminal framework and elimination of carbonate assisted by the adjacent imidazole moiety to construct the (E)-dehydrohistidine. The absolute stereochemistry of the neoxaline was elucidated via our total synthesis. Bioactivity screening indicated that some synthetic intermediates exhibited efficacy against Sleeping Sickness parasites (*Trypanosoma brucei brucei*).

研究分野：天然物合成

キーワード：全合成 インドール ニترون 抗トリパノソーマ イソシアニド -ヒドロキシアミド ピリドン

1. 研究開始当初の背景

ネオキサリン(**1**)は、1979年に我々の研究グループによって真菌 *Aspergillus japonicus* Fig-551 の培養液より単離されたインドールアルカロイドであり、チューブリン重合阻害による抗がん活性を有する(Figure 1)。ネオキサリンは、インドリンスピロアミナル、*E*-デヒドロヒスチジン、嵩高いリバースプレニル基が連結し、かつすべて炭素結合によって囲まれた橋頭位4級炭素を併せ持った特異な構造を有している。同様の骨格を有する天然類縁体が10種報告されており、生合成研究は盛んに行われている。一方、これら天然物群の絶対立体構造は、メリアグリンAとオキサリンのみ X 線構造解析により決定されているが、その他類縁体の絶対立体配置は、未解明である。その構造的特徴から、格好の合成標的であるが、未だネオキサリン類の全合成はおろか、インドリンスピロアミナル骨格の合成例も我々による1例に限られている。

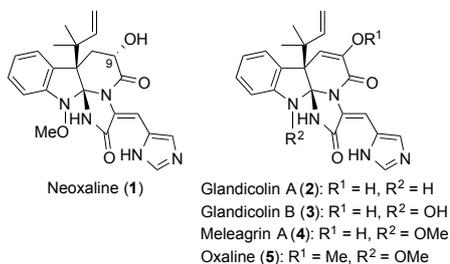
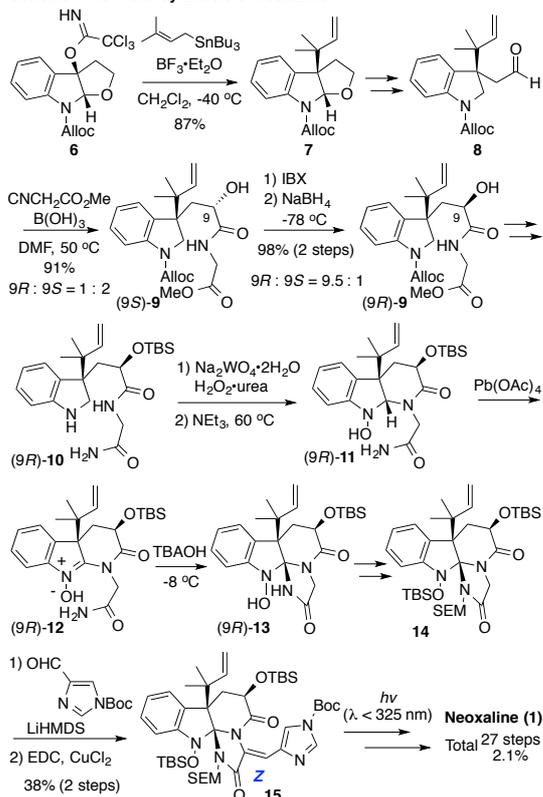


Figure 1. Neoxaline Family

我々は既に、光学活性 3a ヒドロキシフロインドリンの不斉を利用した橋頭位への立体選択的ナリバースプレニル基の導入(**6**→**7**)、

Scheme 1: 1st Total synthesis of neoxaline



求電子性の高いニトロンを經由したインドリンスピロアミナル骨格の構築(**10**→**13**)、合

成終盤の *Z*-デヒドロヒスチジンの光異性化反応(**15**→**1**)を鍵にネオキサリンの全合成を達成している(Scheme 1)。しかしながら、その合成経路は、立体選択的ではなく、工程数、総収率は満足行くものではなかった。

2. 研究の目的

(1) ネオキサリン類のより効率的な合成法を確立し、(2) 類縁天然物を含む様々なアナログを合成し、その生物活性を調査することを目的としている。

3. 研究の方法

(1) ネオキサリンの効率的合成法の確立

先の全合成の具体的な改善点に以下の3点が上げられる。

① イソシアニドのα付加反応

アルデヒド**8**とイソシアノアセテートのα付加の主生成物である(9*S*)-**9**からは、インドリンスピロアミナル骨格を構築することが出来なかったため、酸化・還元の2工程を経て(9*R*)-**9**を得ている。すなわち、本α付加反応の選択性を改善出来れば2工程削減できる。そこで、アルデヒドとイソシアニドの触媒的不斉付加反応の開発を計画した。

② インドリンスピロアミナル骨格構築の短工程化

インドリン**10**から、インドリンスピロアミナル体**13**への変換は、4工程要していたが、本変換は、三回の酸化・二回の環化により構成されることから、適した酸化条件に附せば、最短1工程での変換が可能と考えた。

③ デヒドロヒスチジンの*E*選択的構築

*Z*-デヒドロヒスチジンの*E*体への光異性化(**15**→**1**)は、数mgスケールでは中程度の収率であったが、大量スケールでは収率が低下した。そこで、直接的に*E*-デヒドロヒスチジンを構築できれば、収率に難のある光異性化反応を回避でき、さらに工程数が削減できると考えた。

(2) ネオキサリン類の合成・構造活性相関研究

④ 最適化した合成経路を基にインドリンスピロアミナル骨格を有する天然類縁体を全合成する。

⑤ 天然物とその合成中間体の生物活性を評価する。

#### 4. 研究成果

##### (1) ネオキサリンの効率的合成法の確立

###### ① イソシアニドの $\alpha$ -付加反応

既存の手法を用いてアルデヒド **8** とイソシアノアセテートの $\alpha$ 付加反応の立体選択性の改善を検討したが、立体選択性は改善されず、収率も低下する結果となった。そこで、独自に新規触媒系を探索することとした。本反応には、アルデヒドを活性化しつつ、中間体であるニトリリウムイオンを補足できる分子が良好な触媒になると考えた(Scheme 2)。そこで様々な *E*-配置のアミドを精査した結果、ベンゼン中、2 当量の水存在下、3,5,6-トリフルオロ-2-ピリドン **16** が本反応を良好に触媒し、高収率で対応する $\alpha$ -ヒドロキシアミド体 **17** を与えることを初めて見出した(Table 1)。本反応は、様々な脂肪族アルデヒドやイソシアニドに適用することが出来、立体的に嵩高い **1** の合成中間体 **8** においては、既存の触媒的手法 (<55%収率) よりも高収率で対応する $\alpha$ -ヒドロキシアミド体 **9** を与えた(74%収率)。以上のように、前例のない有機分子触媒を用いたイソシアニドとアルデヒドの $\alpha$ -付加反応の新規触媒系を見出した。残念ながら、**9** の立体選択性は改善されなかったが、本反応の不斉触媒化により **9** のジアステレオ比の改善が可能と考えている。

Scheme 2: Designed catalytic cycles

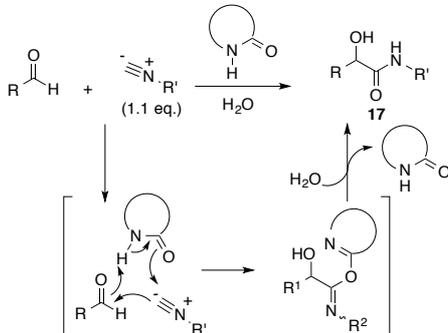
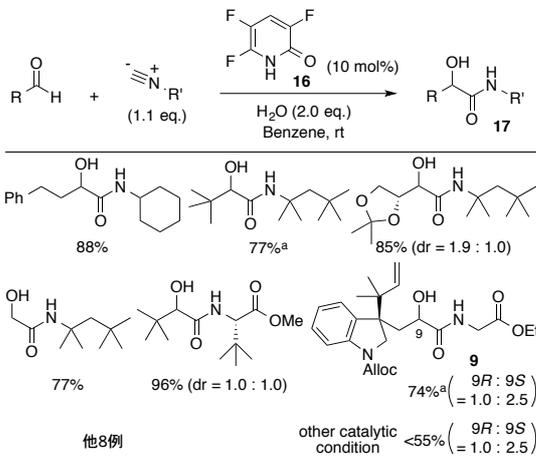


Table 1. 3,5,6-Trifluoro-2-pyridone catalyzed  $\alpha$ -addition of isocyanide

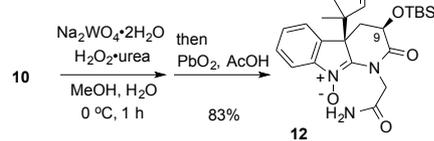


<sup>a</sup> isocyanide (2.0 eq.), catalyst (20 mol%) was used.

##### ② インドリンスピロアミナル骨格構築の短工程化

工程数の削減を目指し、酸化反応を検討した(Scheme 3)。その結果、タングステン酸ナトリウムでインドリン **10** を酸化した後、系中に二酸化鉛と酢酸を添加することで、1 ポットで環状ニロン体 **12** まで高収率で導けた。本手法により、2 工程の削減に成功した。

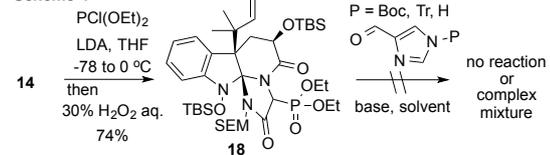
Scheme 3



##### ③ デヒドロヒスチジンの *E* 選択的構築

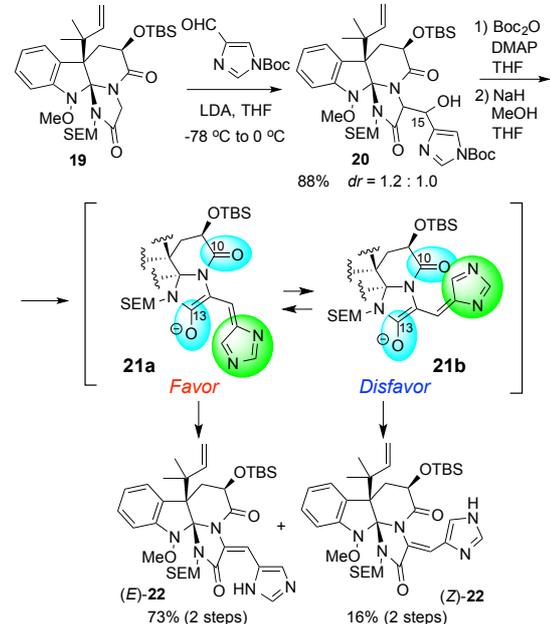
*E* 選択的にデヒドロヒスチジンを構築する手法として、Horner Wadsworth Emmons 反応 (HWE) を想定した。インドリンスピロアミナル体 **14** からホスファイトを導入し、酸化してホスホネート **18** を得た(Scheme 4)。様々な条件下、種々のアルデヒドとの HWE 反応を検討したが、いずれも反応が進行しない、あるいは、複雑な混合物を与え、望むデヒドロヒスチジン体は得られなかった。

Scheme 4



様々な検討の結果、アルドール付加体 **20** の水酸基に脱離基となる Boc 基を導入し、ナトリウムメトキシドを作用させることで *E* 配置のデヒドロヒスチジン **22** が 73%収率で得られることを見出した(Scheme 5)。本反応は、ナトリウムメトキシドによりイミダゾール上の Boc 基が除去され、続いてイミダゾール

Scheme 5



の影響により、15位のカーボネートが脱離し、エノラート形成を経て **21** が形成される。**21** は共役系が伸びた平面構造を有していると予想され、イミダゾール部が10位カルボニルとの反発を避けたコンフォメーション **21a** が **21b** よりも熱力学的に安定と考えられ、その結果、*E* 配置のデヒドロヒスチジン **22** が優先的に得られたと考えている。本反応により、*E* デヒドロヒスチジンが選択的に得られただけでなく、アルドール付加により得られた二種のジアステレオマーを両方用いることができ、収率面で大きな改善となった。

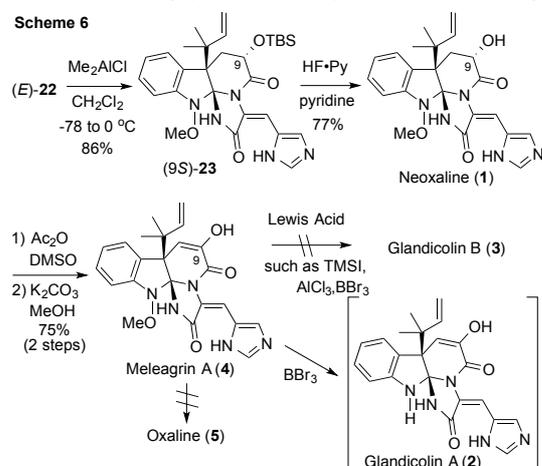
## (2) ネオキサリン類の合成・構造活性相関研究

### ④ ネオキサリン天然類縁体の全合成

上述の通り、インドリンスピロアミナール骨格の構築の短工程化、直接的な *E*-デヒドロヒスチジンの構築に成功した。つぎに、ネオキサリン(**1**)とその類縁天然物であるメリアグリン A(**4**)、オキサリン(**5**)とグランジコリン B(**3**)の全合成に着手した(Scheme 6)。

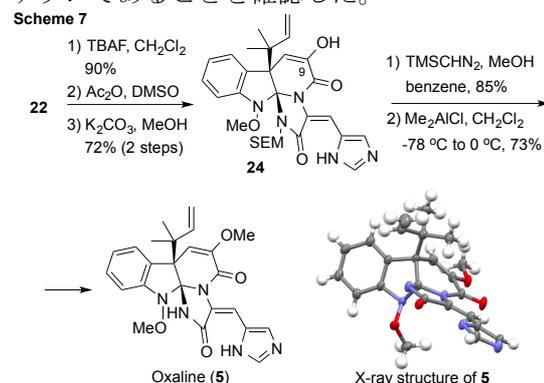
得られた *E*-デヒドロヒスチジン **22** の SEM 基を除去すると先の全合成でも見られた9位の完全なエピメリ化が確認できた。最後に9位のシリル基を除去することで **1** の全合成に成功した。先の全合成では、27工程 2.1%収率であったが、本研究により、25工程 7.9%収率まで向上させることが出来た。

得られた **1** の9位をアルブライト・ゴールドマン酸化によりビニルアセテートにし、アセチル基を除去することで **4** の初の全合成を達成した。さらに、**3** を合成するため、ヒドロキシアミン部のメチル基の除去を検討したが、**3** を得ることは出来なかった。興味深いことに、三臭化ホウ素を用いた場合に、*N*-*O* 結合が開裂された生成物が得られ、<sup>1</sup>H NMR の報告値が完全には一致しなかったが、<sup>1</sup>H NMR、HRMS、MS フラグメント、IR から、天然類縁体のグランジコリン A であることが示唆された。現在、構造解析を進めている。



さらに、**5** へ導くため、**4** の9位水酸基へのメチル基の導入を試みたが、アミドのメチル化が優先し、**5** は得られなかった。そこで SEM 保護体 **22** から、9位水酸基の脱保護、

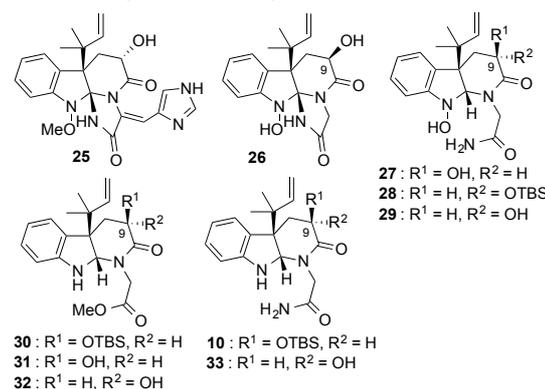
酸化により **24** に導いた後、9位のメチル化、SEM 基の除去を行い、**5** の初の全合成を達成した(Scheme 7)。<sup>1</sup>H NMR が報告値と完全に一致しなかったため、X線構造解析によりオキサリンであることを確認した。



### ⑤ 生物活性の評価

合成した **1**、**5** およびその合成中間体の抗感染症活性を評価した(Table 2)。残念ながら、これら化合物群は、顕著な抗菌活性、抗線虫活性、抗マラリア活性を示さなかったが、合成中間体がアフリカ睡眠病の起因寄生虫であるトリパノソーマに対し、中程度の殺原虫活性を有することを初めて見出した。

Table 2: Anti-trypansomal activity



sample	IC <sub>50</sub> (μg/mL)		SI <sup>[c]</sup>
	Anti-trypansomal Activity <sup>[a]</sup>	Cytotoxicity (MRC-5) <sup>[b]</sup>	
Synthetic <b>5</b>	58.5	>100	>1.7
Synthetic <b>1</b>	>12.5	>28.2	<2.3
<b>25</b>	>12.5	<0.1	<0.008
<b>26</b>	13.5	32.5	2.4
<b>27</b>	11.1	55.1	4.9
<b>28</b>	7.03	58.1	8.3
<b>29</b>	9.22	72.8	7.9
<b>30</b>	11.9	34.5	2.9
<b>10</b>	7.03	56.0	8.0
<b>31</b>	19.0	>100	>5.3
<b>32</b>	41.9	>100	>2.4
<b>33</b>	50.1	>100	>2.0
suramin	1.58		

[a] against *Trypanosoma brucei brucei* strain GUTat 3.1.

[b] against human diploid embryonic cell line, MRC-5.

[c] Selectivity Index = cytotoxicity (μg/mL) / anti-trypansomal activity (μg/mL)

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 7 件)

- ① Takeshi Yamada, Tetsuya Ideguchi-Matsushita, Tomoyasu Hirose, Tatsuya Shirahata, Rei Hokari, Aki Ishiyama, Masato Iwatsuki, Akihiro Sugawara, Yoshinori Kobayashi, Kazuhiko Otoguro, Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka, “Asymmetric Total Synthesis of Indole Alkaloids Containing An Indoline Spiroaminal Framework” *Chem. Eur. J.* **2015**, *21*, in press. (査読有り)  
DOI: 10.1002/chem.201501150
- ② Naftale Katz, Neusa Araújo, Paulo Marcos Zech Coelho, Carlos Medicis Morel, Ana Rosa Linde-Arias, Takeshi Yamada, Yuki Horimatsu, Kou Suzuki, Toshiaki Sunazuka, Satoshi Ōmura, “Evaluation of the Efficacy of Ivermectin on Snails, Intermediate Host of Schistosomiasis” *PLoS One*, **2015**, *10*, in press. (査読有り)
- ③ Akihiro Sugawara, Masahiko Kubo, Takuji Nakashima, Tomoyasu Hirose, Noriaki Tsunoda, Kyouichi Yahagi, Yukihiro Asami, Takeshi Yamada, Kazuro Shiomi, Yoko Takahashi, Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka, “Jietacins with potent nematocidal activity; efficient isolation of novel analogues and divergent total synthesis of jietacin A, B, C, and D” *Tetrahedron* **2015**, *71*, 2149–2157. (査読有り)  
DOI: 10.1016/j.tet.2015.02.038.
- ④ Takeshi Yamada, Tomoyasu Hirose, Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka, “Organocatalytic  $\alpha$ -addition of isocyanides to aldehydes” *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 296–301. (査読有り)  
DOI: 10.1002/ejoc.201403313.
- ⑤ Tetsuya Ideguchi, Takeshi Yamada, Tatsuya Shirahata, Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Yoshinori Kobayashi, Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka, “Asymmetric Total Synthesis of Neoxaline” *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 12568–12571. (査読有)  
DOI: 10.1021/ja406657v.
- ⑥ Yoko Yasuno, Makoto Hamada, Takeshi Yamada, Tetsuro Shinada, Yasufumi Ohfuné, “Stereoselective synthesis of  $E$ - $\alpha$ , $\beta$ -dehydroamino acid esters” *Eur. J. Org. Chem.* **2013**, 1884–1888. (査読有り)  
DOI: 10.1002/ejoc.201300112
- ⑦ 山田健、“ $\beta$ ラク톤の Dyotropic 転位を利用した天然物合成”、有機合成化学協

会誌、2013 年、71 巻、844–845. (査読有り)

[学会発表] (計 17 件)

- ① 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ール骨格を有する Neoxaline 類の効率的な全合成” 日本薬学会第 135 年会, 講演番号 28H-am02S, 神戸学院大学 (兵庫県・神戸市), 2015 年 3 月 27 日.
- ② 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” 日本薬学会第 135 年会, 講演番号 27PB-pm036, 神戸サンボーホール (兵庫県・神戸市), 2015 年 3 月 27 日.
- ③ Tetsuya Ideguchi, Takeshi Yamada, Tatsuya Shirahata, Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Yoshinori Kobayashi, Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka “Concise Asymmetric Total Synthesis of Neoxaline Family” Advanced Molecular Transformation by Organocatalysts 2<sup>nd</sup> International Conference & 7<sup>th</sup> Symposium on Organocatalysis, PS-32, Tokyo University (Tokyo・Bunkyo-ku), 2014, Nov. 21–22<sup>nd</sup>.
- ④ 山田健 “微生物由来天然物の全合成と有機分子触媒を用いた選択的変換” 「有機分子触媒による未来型分子変換」第 3 回有機分子触媒若手セミナー, 玄海ロイヤルホテル (福岡県・宗像市), 2014 年 9 月 7 日. (依頼講演)
- ⑤ 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 (分子活性化-有機分子触媒合同シンポジウム), P0-39, 北海道大学 (北海道・札幌市) 2014 年 6 月 20 日.
- ⑥ 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ール骨格を有する Neoxaline 類の全合成” 第 105 回有機合成シンポジウム, 1–3, 東京工業大学大岡山キャンパス (東京都・目黒区), 2014 年 6 月 10 日.
- ⑦ 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ール骨格を有するネオキサリンの全合成” AKPS 集会 第 8 回北里化学シンポジウム, 講演要旨集 p-83, 北里大学相模原キャンパス (神奈川県・相模原市), 2013 年 12 月 14 日.
- ⑧ Tetsuya Ideguchi, Takeshi Yamada, Tatsuya Shirahata, Tomoyasu Hirose, Akihiro Sugawara, Yoshinori Kobayashi,

Satoshi Ōmura, Toshiaki Sunazuka  
“Asymmetric Total Synthesis of  
(+)-Neoxaline” 13<sup>th</sup> International  
Conference on the Chemistry of  
Antibiotics and bioactive compounds  
(ICCA-13), P-01, Fuji-view hotel  
(Yamanashi·Minamitsuru-gun) , 2013,  
Sep. 25<sup>th</sup>.

- ⑨ 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化学シンポジウム,  
2-07, 日本薬学会長井記念ホール (東京  
都・渋谷区) , 2013 年 5 月 25 日.

[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

山田 健 (YAMADA TAKESHI)

北里大学・大学院感染制御科学府・助教

研究者番号：00608367