

機関番号：14301

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21850003

研究課題名（和文）天然有機化合物をモチーフとした神経細胞の分化・生長制御物質の開発

研究課題名（英文）Synthetic Studies of Dimeric Alkaloids which Control Neuronal Differentiation

研究代表者

塚野 千尋 (TSUKANO CHIHIRO)

京都大学・薬学研究科・助教

研究者番号：70524255

研究成果の概要（和文）：コンプラナジン類は神経細胞分化を促進する物質として単離、構造決定された。特にコンプラナジン A と D はヒト星状細胞腫細胞 1321N からの神経成長因子の分泌を促進し PC-12 細胞の神経分化を促進する点で注目されている。コンプラナジン類を全合成し、構造活性相関研究を行って、生物活性発現機構を解明する端緒を得ることを目的として研究を開始した。その結果、全合成経路を利用した類縁体合成を視野に入れて、ピリジン環の縮環したビシクロ[3.3.1]ノナン骨格を短段階で大量合成可能な合成経路を確立した。そして、これを利用して光学活性ナリコジンの全合成を達成し、コンプラナジン A の全合成への道筋をつけた。今回開発した手法はコンプラナジン類の全合成にとどまらず、他の含窒素天然物の合成に応用可能であろう。

研究成果の概要（英文）：Complanadines, dimeric alkaloids in the lycodine class alkaloids, induce secretion of neurotrophic factors from 1321N1 cells, which promotes neuronal differentiation of PC-12 cells and enhances expression of mRNA for nerve growing factor (NGF). Because of the unique structure and interesting biological activities, we started synthetic studies for disclose the origin of biological activities. So far, we established a convenient synthetic route to (±)-lycodine by using Diels–Alder and intramolecular Mizoroki–Heck reactions. This strategy will be readily applicable to the total syntheses of related natural products including complanadines and synthetic analogues for structure–activity relationship studies.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,090,000	327,000	1,417,000
2010年度	990,000	297,000	1,287,000
年度			
年度			
年度			
総計	2,080,000	624,000	2,704,000

研究分野：有機合成化学

科研費の分科・細目：生体関連化学

キーワード：全合成、アルカロイド

1. 研究開始当初の背景

急速に高齢化社会の進む日本では認知症患者の急激な増加が大きな社会問題となっており、治療から予防や介護まで多くの議

論・研究がなされている。認知症の中でも特にアルツハイマー病やパーキンソン病などは、脳の神経細胞が死んでいくこと（神経細胞変性）が原因であると考えられており、患

者数も認知症全体の半分以上を占めている。アルツハイマー病治療薬は各所で研究・開発されており、いくつかの治療薬が認可されているが、根源的治療薬は未だ現れていない。そのような中、神経の生存、生長、分化、アポトーシス等を制御するタンパク質である神経栄養因子（神経成長因子 NGF、脳神経由来神経栄養因子 BDNF など）がアルツハイマー病やパーキンソン病などの神経細胞変性疾患の治療薬開発の一つの手がかりとなったが、これらタンパク質は生体中で容易に代謝される点や血液脳幹網を通過しないという点で治療薬として直接用いるのは困難であった。一方、非ペプチド性低分子有機化合物はこの二つの問題点を解決するのに最適であり、その探索や化学合成についても研究されるようになっていた。

コンプラナジン類（図 1）はシダ植物 *Lycopodium complanatum* から神経細胞分化を促進する物質として 2000 年に北海道大学の小林らにより単離、構造決定された。これらはリコジン骨格の二量体構造を持っているという点でこれまでに例のない天然有機化合物であった (*Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 9069, *Tetrahedron* **2005**, *61*, 1955, *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 413)。コンプラナジン A と D は 1321N1（ヒト星状細胞腫）細胞からの神経成長因子（NGF）の分泌を促進し PC-12 細胞の神経分化を促進する。しかし、その詳細な生物活性発現機構は明らかになっておらず、有機合成化学的手法により試料供給や標的タンパク質探索のためのプローブ分子作成が強く望まれていた。

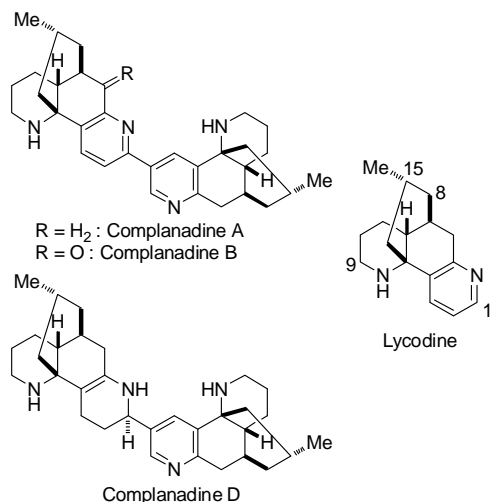


図 1 コンプラナジン類

2. 研究の目的

本研究では NGF の分泌を促すアルカロイド、コンプラナジン類を効率的に化学合成(全合成)し、構造活性相関研究を行って、生物活

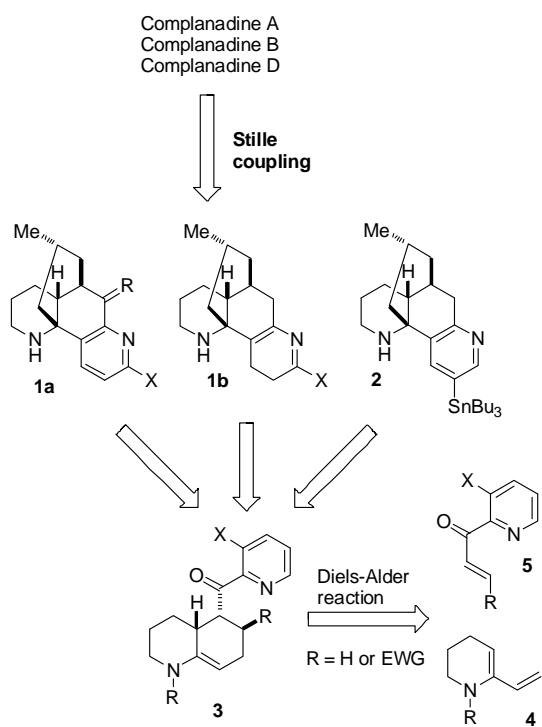
性発現機構解明の端緒を得ることを目的としている。

全合成経路を確立したのち、様々な類縁体を合成して構造活性相関研究を展開することを考慮すると、「リコジン骨格の光学活性体合成」と「大量合成可能な短段階骨格構築法の確立」は、ともに解決すべき主要課題である。全合成で試料供給することで、天然から微量しか得られないコンプラナジン B の生物活性評価も可能となる。

コンプラナジン類が非対称な二量体構造を持つという点は非常に興味深い。二量体構造と生物活性の関係を解明するには、全合成経路を利用した構造活性相関研究が強力な手法となる。構造活性相関研究は標的タンパク質探索のためのプローブ分子作成やコンプラナジン類の作用機構解明のための手がかりとなるだろう。

3. 研究の方法

コンプラナジン類はピリジン環が縮環したビシクロ[3.3.1]ノナン骨格が二量化した化合物である。この単量体構造はリコジン骨格として知られているが、コンプラナジン類に含まれるリコジン骨格は多様な酸化度を有している。また、ピリジン環の 2 位と 3 位で結合形成して二量体構造をなしている点も興味深い。コンプラナジン類を包括的に全合成する上で、酸化度の高いリコジン骨格を経由して多様な単量体を得ることを計画した。逆合成解析をスキーム 1 に示す。構造活性相関への展開も念頭において、コンプラナジン

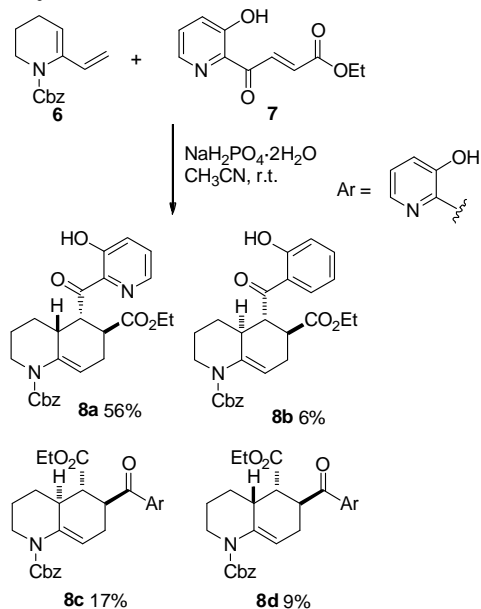


Scheme 1. 逆合成解析

類は光学活性な単量体 **1** と **2** の二量化により得る。リコジン骨格はジェン **4** とオレフィン **5** の Diels-Alder 反応によりテトラヒドロキノリン **3** とした後、Tf 化と続く Heck 反応により合成することを計画した。本合成経路では容易に合成可能な 2 つのフラグメントからわずか 3 段階で四環性骨格が効率的に構築できる。また、全合成経路を利用すれば非天然型を含めた種々の単量体の合成も可能となる。これらの二量化によって多数の二量体型構造類縁体を確実に供給して構造活性相関研究をめざす。

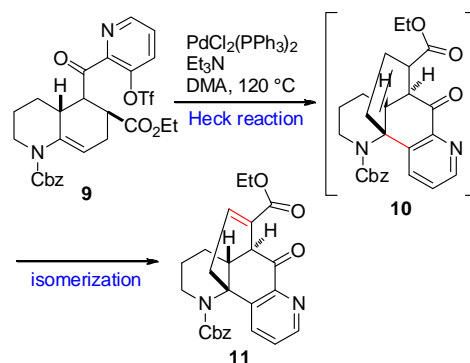
4. 研究成果

δ -パレロラタムより 3 段階で合成したジェン **6** と 3-ヒドロキシピコリン酸より調製したジェノファイル **7** の Diels-Alder 反応についてまず検討した (スキーム 2)。本反応は 4 つのジアステレオマーを与える可能性があるが、トルエン中 110°C で反応を行うと 6:2:3:1 の選択性で望みの立体化学を有するオクタヒドロキノリン **8a** を主生成物として得た。さらに、添加物・溶媒等について検討したところ、リン酸二水素ナトリウムを添加すると反応に加速効果が見られ、アセトニトリル中室温でも反応が進行し、ジアステレオ選択性も改善した (9:1:3:1.5)。なお、Diels-Alder 反応の主生成物はシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより単離可能であった。

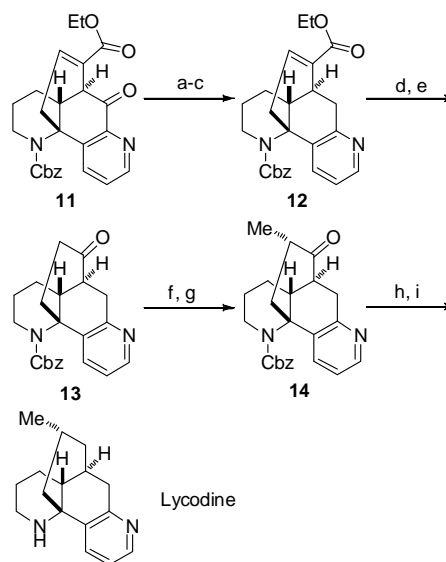


オクタヒドロキノリン **8a** をトリフラート化し、Heck 反応について検討した (スキーム 3)。種々のパラジウム触媒や溶媒等について条件検討した結果、触媒量のビストリフェニルホスフィンジクロロパラジウムと (塩

基) でジメチルアセトアミド中 120°C で処理すると反応は円滑に進行して、四環性化合物 **11** を 73% 収率で得ることに成功した。また、Heck 反応を大スケールで行う際には生成物がパラジウムに配位して触媒が失活することを防ぐために高希釈条件で反応させることが重要であることもまた明らかにした。これにより最初の目的である「大量合成可能な短段階骨格構築法の確立」を達成し、重要中間体である四環性化合物を大量に供給することを可能とした。



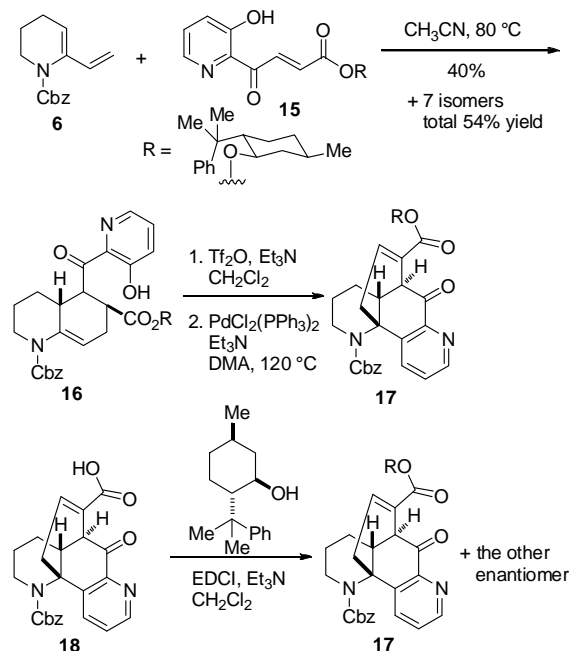
コンプラナジン類の全合成をふまえ、四環性化合物 **11** からリコジンを全合成した。Barton 法を含む三段階でケトンをもチレンへと還元して化合物 **12** へと誘導した (スキーム 4)。エステルを加水分解した後、Curtis 転位反応により脱炭酸してケトン **13** とし、シ



Reagents and conditions: a) NaBH_4 , $\text{CeCl}_3 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, MeOH , 0 °C to rt, 86% (11 : 1); b) NaH , CS_2 then MeI , THF , 0 °C to rt, 84%; c) $n\text{-Bu}_3\text{SnH}$, AIBN , toluene, 100 °C, 79%; d) $\text{LiOH} \cdot \text{H}_2\text{O}$, $\text{MeOH} \cdot \text{THF} \cdot \text{H}_2\text{O}$, 50 °C; e) $(\text{PhO})_2\text{P}(\text{O})\text{N}_3$, Et_3N , toluene- CH_3CN , 0 °C then H_2O , reflux, 98% (2 steps); f) LiHMDS , TMSCl , Et_3N , THF , -78 °C, 98%; g) MeI , BTAF , MS4A , THF , 0 °C to rt, 64%; h) ethanedithiol, $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$, 0 °C to rt, 93%; i) Raney Ni (W-2), EtOH , reflux, 85%

リルエノールエーテルを経由して立体選択的なメチル基を導入した。ケトンを選択的にチオアセタール **14** へと変換し、脱硫と脱保護を同時に行なってリコジンのラセミ全合成を達成した。

コンプラナジンの全合成に向けて光学活性な四環性化合物の合成経路の確立をする必要がある。まず、不斉補助基を用いた Diels-Alder 反応について検討した。光学活性なジエノファイル **15** を用いた場合にジアステレオ選択的 Diels-Alder 反応が進行し、目的の立体化学を有するオクタヒドロキノリン **16** を主生成物として与えたが、中程度の収率であり、他のジアステレオマーの生成を完全に抑制することができなかった(スキーム 5)。得られた **16** は Tf 化後、Heck 反応により四環性化合物 **17** へと誘導した。そこで、ラセミ合成により得た四環性化合物 **11** から加水分解とエステル化での速度論的光学分割を試みた。種々検討した結果、光学活性なプレゴン誘導体との縮合により、ジアステレオ選択的 Diels-Alder 反応で得たものと同じ不斉中心を有する四環性化合物 **17** の合成に成功した。不斉補助基の除去後、ラセミ合成と同様にケトンの還元、立体選択的なメチル基の導入、脱保護によりリコジンの不斉全合成を達成した。以上の結果より「リコジン骨格の光学活性体合成」を可能とした。



Scheme 5. Synthesis of optical active intermediate **17**.

上記二つの問題点を解決したことでコンプラナジン類の全合成を可能な段階とした。Stille カップリング反応で二量化するため、四

環性化合物 **11** のピリジン環の臭素化やスタニル化について現在検討中である。ピリジン環は電子不足型芳香族であるため、複雑な化合物を位置選択的に官能基化する手法はコンプラナジン類の全合成にとどまらず、他の含窒素天然物の合成に応用可能となるであろう。また、本研究で確立した合成経路では非天然型を含めた種々の単量体の合成も可能である。ピリジン環の選択的官能基化の知見とあわせれば、異なる単量体の連結によって多数の二量体型構造類縁体を確実に供給できる。四環性化合物を確実に大量に供給できること、そして、多数の構造類縁体調製が可能であることは、全合成をさらに生命科学 research へと展開させることにつながるはずである。

ところでコンプラナジン類は二量体構造を有しているが各単量体は酸化度がそれぞれ異なる。コンプラナジン B および D や構造類縁体の調製を視野に入れて、モデル化合物を用いてピリジン環の段階的還元について検討した。その結果、アシルピリジニウム塩を経由して還元することで 1,4-還元体を選択的合成する条件を見出した。これは、コンプラナジン類の全合成のみならず、他の生物活性を有する天然物の合成にも応用可能である。

以上、まとめると本研究では全合成経路を利用した類縁体合成を視野に入れて、ピリジン環の縮環したビシクロ[3.3.1]ノナン骨格を短段階で大量合成可能な合成経路を確立した。この合成経路を利用して光学活性なリコジンの全合成を達成した。これにより、コンプラナジン A の全合成への道筋がたった。また、コンプラナジン B および D や構造類縁体の調製を視野に入れて、アシルピリジニウムカチオンを経由したピリジン環の 1,4-選択的還元の条件を見出した。今回開発した手法はコンプラナジン類の全合成にとどまらず、他の含窒素天然物の合成に応用可能となるであろう。

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 5 件)

1. Anne-Lise Girard, Taro Enomoto, Shinsuke Yokouchi, Chihiro Tsukano, Yoshiji Takemoto “Control of 6-Exo and 7-Endo Cyclization of Alkynylamides using Platinum and Bismuth Catalysts.” *Chem. Asian J.*, 2011, 印刷中。(査読有)

2. Sudhir M. Hande, Motoyuki Nakajima, Haruhi Kamisaki, Chihiro Tsukano, and Yoshiji Takemoto, "Flexible Strategy for Syntheses of Spirooxindoles using Palladium-catalyzed Carbosilylation and Sakurai-type Cyclization." *Org. Lett.*, **2011**, 1828-1831. (査読有)

3. Haruhi Kamisaki, Tsuyoshi Nanjo, Chihiro Tsukano, Yoshiji Takemoto "Domino Pd-Catalyzed Heck-Type Cyclization and Bi-Catalyzed Hydroamination: Formal Syntheses of Elacomine and Isoelacomine." *Chem. Eur. J.*, **2011**, 17, 626-633. (査読有)

4. 塚野千尋 Dionicio R. Siegel and Samuel J. Danishefsky, "多環状多プレニルアシルフロログルシノール類の全合成" 有機合成化学協会誌, **2010**, 68, 592-600. (査読有)

5. Chihiro Tsukano, Le Zhao, Yoshiji Takemoto, Masahiro Hirama, "Concise Total Synthesis of (±)-Lycodine." *Eur. J. Org. Chem.*, **2010**, 4198-4200. (査読有)

[学会発表] (計 6 件)

1. ○C. Tsukano, L. Zhao, Y. Takemoto, M. Hirama, "Total synthesis of racemic lycodine" PACIFICHEM2010, Honolulu, Hawaii 平成 22 年 12 月 15-20 日

2. ○塚野千尋, Sudhir M. Hande、上崎春陽、中島基之、竹本佳司, "パラジウム触媒によるシリルアミド化を鍵反応としたスピロオキシインドール骨格合成法の開発" 第 40 回複素環化学討論会 (仙台) 平成 22 年 10 月 14-16 日

3. ○塚野千尋, "多環性生理活性天然物の全合成研究" 第 45 回天然物化学談話会 (愛知・蒲郡) 平成 22 年 7 月 6-8 日

4. ○塚野千尋、趙楽、竹本佳司、平間正博, "リコジンのラセミ全合成" 第 8 回次世代を担う有機化学シンポジウム (東京) 平成 22 年 5 月 13-14 日

5. Sudhir M. Hande, 上崎春陽, ○塚野千尋, 竹本佳司, "Pd 触媒によるシリルアミド化反応を鍵反応としたスピロオキシインドール骨格合成法の開発" 日本薬学会第 130 年会 (岡山) 平成 22 年 3 月 28-30 日

6. ○塚野千尋、趙楽、竹本佳司、平間正博, "リコジンのラセミ全合成" 日本化学会第 90 春季年会 (大阪) 平成 22 年 3 月 26-29 日

[図書] (計 1 件)

1. 佐々木誠、塚野千尋, "巨大ポリエーテル天然物・ギムノシン-A の全合成", 天然物全合成の最新動向, シーエムシー出版, **2009**, p228-243.

[その他]

ホームページ等

<http://www.pharm.kyoto-u.ac.jp/orgchem/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

塚野 千尋 (TSUKANO CHIHIRO)

京都大学・薬学研究科・助教

研究者番号: 70524255

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし