

令和 5 年 5 月 31 日現在

機関番号：32607

研究種目：若手研究

研究期間：2021～2022

課題番号：21K15232

研究課題名（和文）ポリエン鎖状骨格を有する選択的抗嫌気性活性天然物の収束的全合成研究

研究課題名（英文）Convergent total synthesis of selective antianaerobic active natural products with polyene structure

研究代表者

池田 朱里 (Ikeda, Akari)

北里大学・感染制御科学府・特任助教

研究者番号：40825056

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,500,000円

研究成果の概要（和文）：偏性嫌気性菌Clostridioides difficileは、重篤度の高い偽膜性大腸炎を誘発するが、有効な治療薬が少ないことが問題であった。一方、C.difficileに対して選択的かつ強力な抗菌活性を示す天然物エフロトマイシンが見出されたことから、エフロトマイシンをリード化合物とした創薬研究の展開を見越し、非天然型を含む多様な誘導体合成を可能にする全合成経路の確立を目指した。種々検討の結果、4つに分割したフラグメントのうち3つのフラグメントの構築を達成した。さらに、3つのフラグメントを連結することで、エフロトマイシンの非糖鎖含有天然物であるオウロドックスの合成を達成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

エフロトマイシンの合成はすでに1例報告されているが、その全合成経路は直線的であり、創薬研究にて必要な多様な誘導体検討には適さない。この課題を解決すべく本研究では、エフロトマイシンを特徴的な構造ごとに4つのフラグメントに分割し、収束的な合成経路を確立することで幅広い誘導体の創製を目指した。本研究の成果は、エフロトマイシンをリード化合物とした新規抗C.difficile治療薬の創薬研究に対し、社会的意義の高い貢献が可能である。また本研究では、2つのフラグメントに共通する3置換オレフィンの効率的な構築法を確立しており、他のポリエン鎖状骨格を有する天然物合成にも活用できることから、学術的な意義も高い。

研究成果の概要（英文）：Clostridioides difficile, an anaerobic bacterium, induces highly severe pseudomembranous colitis. However, there are few effective therapeutic agents available. On the other hand, a natural product, eflutomycin, was found to exhibit selective and potent antibacterial activity against C. difficile. In anticipation of the development of drug discovery research using eflutomycin as a lead compound, I aimed to establish a total synthesis route that would enable the synthesis of various derivatives including non-natural forms. As a result of various investigations, we achieved the construction of three out of four fragments. Furthermore, by linking the three fragments, we achieved the synthesis of aurodox, a non-sugar-containing natural product of eflutomycin.

研究分野：天然物合成化学

キーワード：ポリエン エフロトマイシン 鎖状天然物 全合成 収束的 C.difficile 3置換オレフィン

1. 研究開始当初の背景

発生頻度および再燃率の高い抗菌薬関連性腸炎・下痢症である偽膜性大腸炎は、広域スペクトルを有する抗菌薬の不適切な使用による菌交代症により誘発され、その約 20%が嫌気性菌である *Clostridioides difficile* に起因する (*Gastroenterol Rep.* 2018, 6,21)。しかしながら、この菌種に対する既存治療薬はバンコマイシンを含む 3 種類のみであり、耐性菌の出現も確認されていることから、新規抗菌薬の開発が必要とされていた。

このような背景のもと、大村智記念研究所が保有する二次代謝産物ライブラリーを用いて抗嫌気性菌活性物質スクリーニングを実施した結果、*S.lactamdurans* から単離されたエフロトマイシン (1) が *C.difficile* に対して選択的かつ強力な抗菌活性を示すことを見出した。この特徴的な活性は、1 が狭域スペクトルを有する新規抗菌薬のリード化合物として活用できることを示唆している。しかしながら 1 の全合成は、過去に 1 例しか報告されておらず (*J. Am. Chem. Soc.* 1985, 107, 1691) さらにその全合成経路は直線的であったことから、リード探索研究において必要な多様な誘導体創製には適さない。すなわち、新規抗 *C.difficile* 治療薬の創製には、多様な誘導体の創製を可能とする新規合成経路の確立が必要とされていた。

2. 研究の目的

本研究では、エフロトマイシン (1) をリード化合物とした *C.difficile* 選択的な新規抗菌薬の創製を目的に設定し、その目的に求められる幅広い誘導体の創製を可能にする 1 の全合成経路の確立を目指すこととした。

3. 研究の方法

合成標的であるエフロトマイシンは、ポリエン鎖状骨格を有する天然物であり、ピリドン環、フラン環および 6 員環アセタールの各特徴的構造を 3 置換オレフィンにて連結し、末端に糖鎖を持つ (図 1)。筆者はこの構造的特徴に着目し、ピリドン環フラグメント (A)、フラン環フラグメント (B)、6 員環アセタールフラグメント (C) および糖鎖フラグメント (D) の 4 つに分割し、各フラグメントを別途構築した後に合成終盤にて順次連結するような収束的な合成経路を立案した。すなわち、各フラグメントを修飾することで、非常に幅広い誘導体の創出が可能である。本研究は、科研費研究活動スタート支援獲得時より継続している課題であり、すでに 3 置換オレフィンの効率的な構築法を確立している。今回採択された科研費若手研究では、引き続き各フラグメントの構築と各フラグメントの連結検討に注力した。

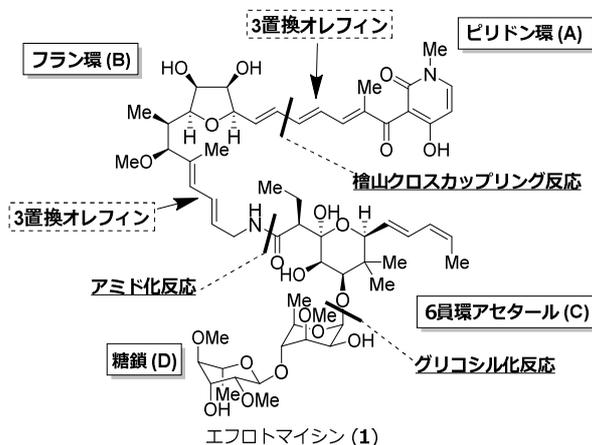
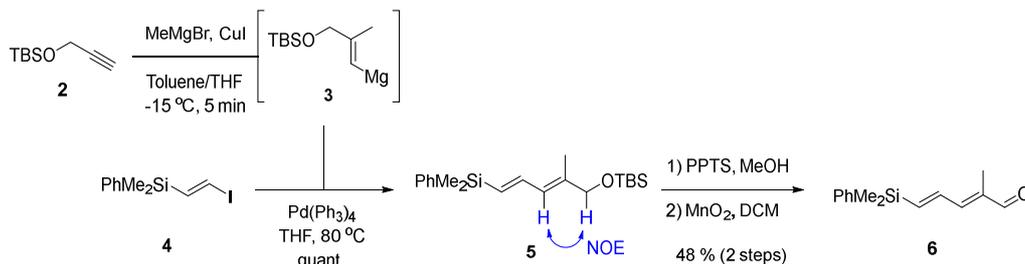


図1. エフロトマイシン (1) の構造的特徴

4. 研究成果

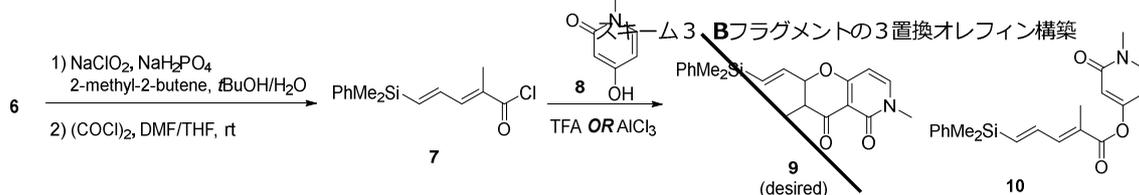
(1) 研究内容の進捗

これまでの検討の結果、4 つのフラグメントを繋ぐ 3 置換オレフィンの効率的な構築法を確立し、ピリドン環フラグメント (A) の合成を進めていた (スキーム 1)。すなわち、TBS 基で保護したプロパルギルアルコールを出発原料とし、銅触媒を用いた系中でのマグネシウム中間体 3 の形成を経て、別途調製したヨード 4 との Pd 触媒を用いた熊田クロスカップリング反応を行うことで、目的の幾何配座を有するジエン 5 を高収率で合成した。続いて、酸による TBS 基の脱保護、二酸化マンガンによるアリール位酸化を行うことでアルデヒド 6 を得ていた。



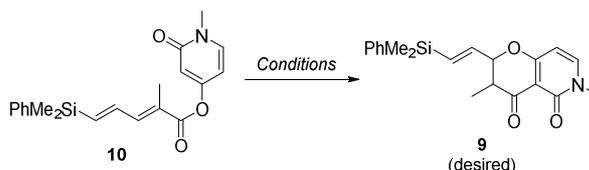
スキーム 1. Aフラグメントの3置換オレフィンの簡便な構築

天然物から得た知見より、目的とする A フラグメントは、ピリドン環のフェノール性水酸基が分子内環化し、二環性骨格となった安定構造であるジヒドロピラン骨格に設定していた。そこで筆者は、先述の **6** を酸化した後、酸塩化物 **7** へと変換し、別途調製した 4-hydroxypyridone (**8**) とのアシル化と続くアシル転位反応を経由したオキサマイケル反応を行うことで、目的の **9** を得ようと



スキーム 2. A フラグメントの構築

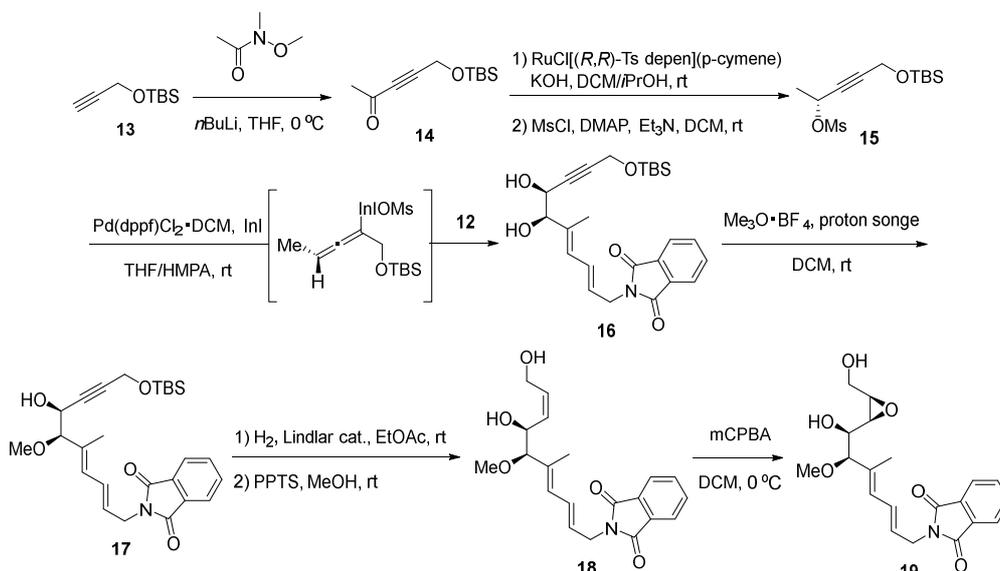
試みた (スキーム 2)。しかしながら、TFA や塩化アルミニウムを用いた酸条件では、目的のアシル化は全く進行せず、エステル化が進行した **10** が主生成物として得られた。そのため筆者は、**10** を経由したフリース転位による A フラグメントの構築が可能であると考え、種々検討を行った (テーブル 1)。エントリー 1 および 2 に示すような酸性条件では、反応系が複雑になる結果となった。一方、Kappe らによって報告された塩基性条件を用いたところ、目的とする **9** が少量ながら得られた (エントリー 3)。筆者は、この低収率の原因が KCN の溶媒への溶解性にあると考え、添加剤を加えたところ、反応が促進され、25% で目的の **9** を単一のジアステレオマーとして得ることに成功した (エントリー 4)。以上の結果から、低収率ではあるものの、当初の予定通り目的のピリドン環フラグメント (A) の合成を達成した。



ent.	Conditions	Results
1	TFA, 60°C	messy
2	$\text{AlCl}_3, \text{DCM}, 40^\circ\text{C}$	messy
3	KCN, 18-crown-6-ether, Et_3N toluene, 40°C	trace
4	KCN, 18-crown-6-ether, TBAI, Et_3N toluene, 40°C	25%

テーブル 1. フリース転位反応の条件検討

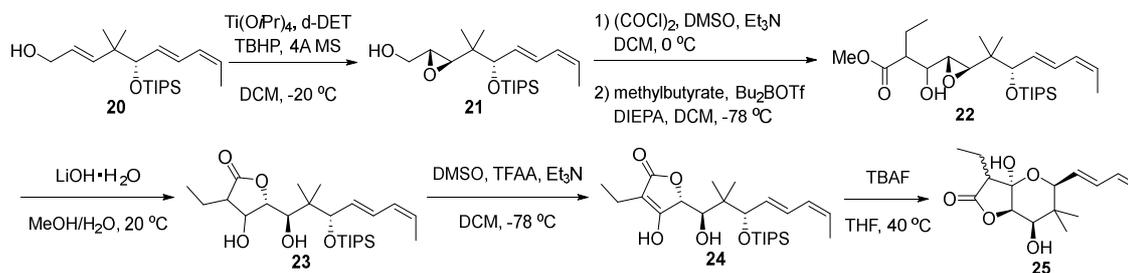
一方、フラン環フラグメント (B) についても、これまでの研究において着手しており、プロパルギルアルコールを出発物質とした同手法を用いることで、3 置換オレフィン **11** の構築を完了していた。続いて、**11** の TBS 基を脱保護し、スワン酸化に付すことで B フラグメントの下部部位に相当する **12** の合成を達成した (スキーム 3)。また B フラグメントのフラン環に相当するプロパルギル部分は、同様に TBS 化したプロパルギルアルコール **13** を出発物質とし、ワインレブケトンかによるメチルケトン **14** の合成、野依不斉水素移動反応による立体選択的な還元と続くメシル化反応を行い、キラルなメシラート **15** を合成した (スキーム 4)。また **15** の水酸基の立体に関しては、改良モッシャー法を別途行うことで決定している。続いて、先の **12** を用いたアンチ選択的なマーシャルプロパルギル化を行った。すなわち、Pd 触媒存在下、インジウムヨードを用いてキラルアレニル種を系中で調製し **12** を添加することで、目的の **16** を合成した。水酸基の立体は、インジウムとアルキル基間での立体的反発により選択的に進行したと考



スキーム 4. B フラグメントの構築

えている。続く水酸基のメチル化反応では、水素化ナトリウムとメチル化剤を組み合わせた反応条件を検討したものの、反応系中が複雑化する結果を与えた。筆者は以上の結果が塩基性条件下に対して基質が耐えられないことが原因であると考え、酸性条件下でメチル化が可能なメーヤーワイン試薬を用いたところ、メチルエーテル **17** を効率良く得ることができた。続いて、リンドラ触媒を用いた Z-オレフィン選択的な水素添加反応を行い、酸条件による TBS 基の除去を行うことでアリルアルコール **18** を得た。構築したアリルアルコールを起点にエフロトマイシンの連続する立体を構築すべく、mCPBA 試薬を用いた立体的なエポキシ化を行い、**19** を合成した。続き、エポキシドを利用したフラン環の構築検討を進めていく。

また以前までの研究にて、C フラグメントの構築を達成していた。しかしながら、アセタール環形成時のエチル基のジアステレオ比が低いという問題点が明らかとなっていた。そこで、本経路の最適化によるジアステレオ比の改善を目指した。先の合成経路の中間体である **20** を用い、シャープレス不斉エポキシ化反応を行うことで、**21** を高収率で得た (スキーム 5)。次にスワン酸化反応によりアルデヒドを調製したのち、高い幾何選択性にて Z-エノラートの調製が可能な Bu₂BOTf 試薬を用いてアルドール反応を行った。種々検討の結果、目的の **22** を合成することに成功し、続いて水酸化リチウムを用いた加水分解を行うことで単一のジアステレオマーとしてラクトン **23** を得た。得られたラクトンの水酸基の選択的酸化はトリフルオロ酢酸を用いた DMSO 酸化により行われ、安定構造であるエノール **24** を得た。最後に、TBAF 試薬による保護基の除去を行い、酸水溶液で処理することでヘミアセタール環化した **25** を得た。この **25** は、先の経路にて合成した化合物と一致することを確認している。以上の結果から、ジアステレオ比を大幅に改善し、かつ経路を効率化した C フラグメントの合成法を構築した。



スキーム 5. 新たなCフラグメント構築法

(2) まとめ

筆者は、研究標的であるポリエン鎖状骨格を有する天然物エフロトマイシン(1)の *C. difficile* 選択的かつ強力な抗菌活性に着目し、非天然型誘導体を視野に入れた多様な誘導体を創製すべく、1の収束的な合成経路の確立に注力してきた。今回採択された科研費若手研究の成果として、4つに分割したフラグメントのうちAおよびCフラグメントの構築を達成した。特にCフラグメントの構築においては、先の知見を基により効率的な合成経路の確立に成功した。またBフラグメントに関しては、3置換オレフィンのプロパルギル化により、フラン環部分の立体制御を可能とするエポキシドの構築を完了した。

今後、各フラグメントの合成を完了し、順次連結することで標的天然物であるエフロトマイシンの収束的な合成経路が確立できると考える。また、本研究成果が *C. difficile* に対する選択的な新規抗菌薬の創製において、有用な学術的知見を与えることを期待する。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 M. Ohara, A. Ikeda, A. Nakajima, T. Ono, Y. Noguchi, A. Watanabe, T. Hirose, T. Sunazuka	4. 巻 66
2. 論文標題 Towards the total synthesis of aurodox: Preparation of the key hemiacetal-lactone	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron Lett.	6. 最初と最後の頁 152799-152802
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.tetlet.2020.152799	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計0件

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------