

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年3月31日現在

機関番号：17301

研究種目：基盤研究（A）

研究期間：2010～2012

課題番号：22249001

研究課題名（和文） 高効率な分子構築法に基づく細胞機能制御活性創薬リード天然物の合成

研究課題名（英文） Efficient Synthesis of Biologically Active Natural Products Useful for Drug Discovery

研究代表者

畑山 範 (HATAKEYAMA SUSUMI)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号：20143000

研究成果の概要（和文）：

強力かつ特異的な細胞機能制御活性をもつ創薬リード天然物の全合成研究を行った。その結果、当初、標的化合物として設定したオキサゾロマイシンAとカイトセファリンの全合成ならびにウエルウィスタチンの形式全合成に成功した。さらに、本基盤研究の途上にRh(II)を触媒とするC-Hアミノ化反応に基づく新たな複素環合成法を開発すると共にNW-G01、エングレリンA、ならびにインソマイシンA、B、Cの全合成にも成功した。

研究成果の概要（英文）：

We have studied on the total synthesis of natural products having intriguing biological activities useful for drug discovery. As a result, we have achieved the total syntheses of oxazolomycin A and kitocephalin, and the formal synthesis of welwistatin. In addition, we have developed a new methodology for the construction of heterocycles which relies on a Rh(II)-catalyzed C-H amination reaction, and have achieved the total syntheses of NW-G01, englerin A, and inthomycin A, B, C.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	18,800,000	5,640,000	24,440,000
2011年度	11,100,000	3,330,000	14,430,000
2012年度	7,900,000	2,370,000	10,270,000
年度			
年度			
総計	37,800,000	11,340,000	49,140,000

研究分野：有機合成化学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：全合成、天然物

1. 研究開始当初の背景

受容体や酵素などを介して細胞の機能を制御する低分子化合物が、医薬開発リードとしてあるいは生物学研究のツールとして大きな注目を集め、そのような細胞機能制御分子の探索が天然物を中心に世界中で活発に行われている。しかしながら、たとえ有望な活性を示す化合物が見いだされたとしても、微量成分であったり、類似した化合物の混合物であったりなどの理由から、天

然からの化合物の獲得が極めて困難な場合が多々ある。また、多くの場合、毒性や化学的不安定性などの理由から、それらの軽減やさらには作用増強のための構造改変が求められる。そのような場合、全合成研究をとおしての効率的合成法の確立が極めて重要となる。ポストゲノム時代の到来で分子レベルでの細胞機能解明が強く望まれている現在、今こそ精密合成における「ものづくり力」の格段のレベルアップが必要で

ある。

2. 研究の目的

本研究では、抗腫瘍活性、抗ウイルス活性、P 糖タンパク質阻害活性、およびグルタミン酸受容体アンタゴニスト活性等の特異的な細胞機能制御活性をもち医薬開発リードや生物学研究のツールとして有望視されながら天然から純粋な形で供給が困難な状況にあるオキサゾロマイシン A、ウエルウイスタチン、およびカイトセファリンを研究対象として取り上げ、全合成研究をとおしてその量的供給を可能にする効率的合成法を確立することを目的としている。また、多様な誘導体を合成することによって、活性に関わる構造情報を引き出し、これら化合物が関わる受容体や酵素などを介した細胞機能の分子レベルでの解明に貢献することも目的としている。

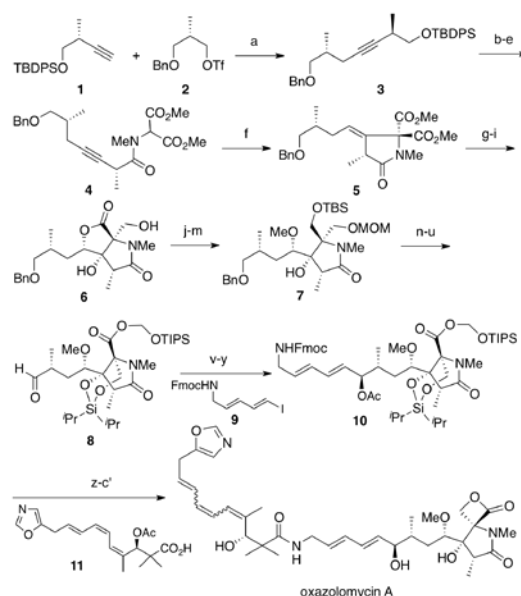
3. 研究の方法

それぞれの標的天然物について、高度な反応制御下に合成を行う。すなわち、オキサゾロマイシン A に関しては、高度置換ピロリジノンコア部を含む右セグメントの合成、オキサゾール部を含む左セグメントの合成を経て、全合成を達成する。ウエルウイスタチンに関しては、高効率な[4.3.1]デカンノン骨格構築法を開発し、選択的な官能基変換を経て、全合成を達成する。カイトセファリンに関しては、高度置換ピロリジノンコアピロリジノンコア部の立体制御合成法を開発し、左右両アミノ酸部の構築を経て、全合成を達成する。

4. 研究成果

(1) **オキサゾロマイシン A の全合成** : オキサゾロマイシン A は放線菌が産生する一連のオキサゾロマイシン類天然物の代表化合物であり、抗腫瘍活性や抗ウイルス活性を示す。本研究では、オキサゾロマイシン A の初の全合成を達成し、他のオキサゾロマイシン類天然物の合成にも適用できる一般合成法の開発に成功した。すなわち、(S)-ヒドロキシイソ酪酸メチルから得られる **1** と **2** をカップリングし **3** とし、さらにアミド **4** に変換後、In(OTf)₃ 触媒 Conia-エン反応を行い、ラクタム **5** を高収率かつ高立体選択的に合成した。続いて、**5** より面選択的なジヒドロキシル化に続くエステル化学選択的還元により 3 連続不斉中心を一挙に構築し、**6** へと高立体選択的に導いた。さらに、**6** から γ -ラク톤の開裂、C-9 位水酸基のメチル化、保護基の脱着等を経てアルデヒド **8** に変換した。この **8** からヨードジエナミン **9** との野崎-檜山-岸反応、酸化-還元による 2 級水酸基部分の立体化学の制御、アセチル化を経て、右セグメント **10** を合成した。最後に、**10** と別途に合成

した左セグメント **11** を連結後、シリル保護基とアセチル基の除去によって得られるヒドロキシカルボン酸から β -ラクトン形成を行い、オキサゾロマイシン A の全合成を達成した。



Reagents. (a) *n*-BuLi; (b) TBAF; (c) H₂CrO₄; (d) SOCl₂; (e) 2-(methylamino)malonate; (f) In(OTf)₃ (cat.), DBU (cat.), toluene, reflux; (g) OsO₄, NMO; (h) LiOH; (i) (COCl)₂, then NaBH₄; (j) MOMCl; (k) NaBH₄; (l) TBSOTf; (m) Me₃O⁺BF₄⁻; (n) TBAF; (o) H₂CrO₄, then NaClO₂; (p) ZrCl₄ (cat.), *t*-PrOH, reflux; (q) *n*-C₁₂H₂₅SCH₂OTIPS, CuBr₂, *n*-Bu₄NBr; (r) Pr₂Si(OTf)₂; (s) H₂, Pd(OH)₂; (t) Dess-Martin; (u) Dess-Martin; (v) **9**, NiCl₂·CrCl₃; (w) Dess-Martin; (x) L-Selectride; (y) Ac₂O; (z) DBU, then **11**, BOPCl; (a') HF-pyridine; (b') LiOH; (c') HATU.

図 1 : オキサゾロマイシン A の全合成

(2) **インソマイシン A, B, C の全合成** : インソマイシン A, B, C は放線菌の培養液から単離された天然物であり、オキサゾロマイシン天然物の左セグメントに相当する構造を有している。生物活性に関しては、抗菌活性や前立腺がん細胞増殖抑制作用を有することが報告されている。前述のオキサゾロマイシン天然物の合成研究において、左セグメントの全ての幾何異性体に適用できる方法論の開発が必要となったため、インソマイシン天然物を新たに標的化合物として選び合成研究を行った。まず、*Z*-アルデヒド **12** とプロピオン酸クロリドとの不斉[2+2]環化反応を詳細に検討したところ、LiClO₄ 共存下キニジン TMS エーテル (TMSQD) を触媒とする条件において最も良好な結果が得られ、望む立体配置の β -ラクトン **14** が 98% ee, >99% de で 92% の収率で得られることを見出した。さらに、TMSQD の擬エナンチオマーであるキニーネ TMS エーテル (TMSQN) を用いて反応を行っても、良好な収率及びエナンチオ選択性で反応が進行し、**16** が得られた。また、*E*-アルデヒド **13** に対しても同様に反応が進行し、高エナンチオ及びジアステレオ選択的に β -ラクトン **15** が良好な収率で生成した。 β -ラクトン **14** からメチル化を含む 4 段階で **17** に変換後、ヨードジエン **18** と **19** に導き、アルケンルズ **21** との Stille カップリングを経

て、インソマイシン A と B の全合成に成功した。さらに、**15** からヨードジエン **20** に導き、同様に **21** との Stille カップリングを経て、インソマイシン C の全合成も達成した。

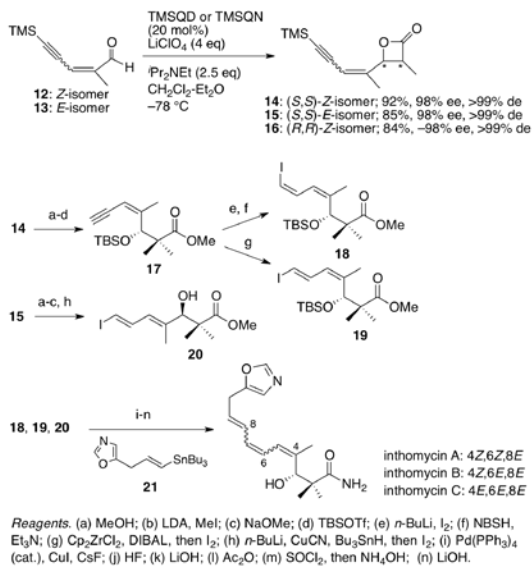


図 2: インソマイシン A, B, C の全合成

(3) ウェルウィスタチンの形式全合成:

ウェルウィスタチンは藍藻から単離された一連のウェルウィットインドリノンアルカロイドの一つであり、多剤耐性 (MDR) に深く関わる P-糖タンパク質に対して強力な阻害活性を示す。本研究では、高度に置換されたビシクロ[4.3.1]デカノン骨格とインドリノン環が縮環したコア構造の高立体選択的合成法の開発に成功し、ウェルウィスタチンの形式全合成を達成した。すなわち、まず、アルデヒド **22** とヨウ素体 **23** を野崎-檜山-岸反応に付した後酸処理し、ラクトン **24** へと変換した。

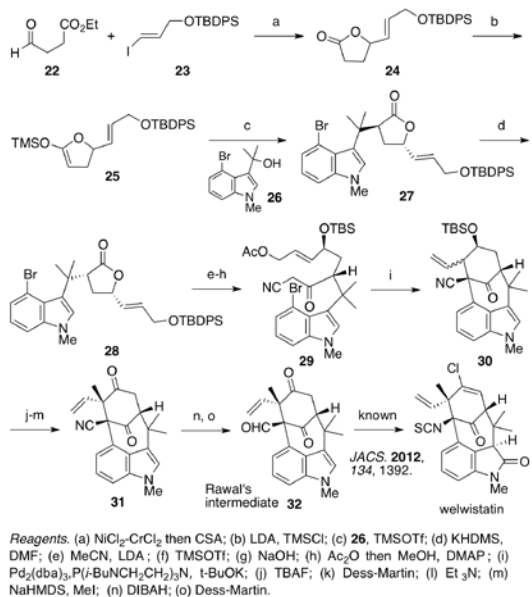


図 3: ウェルウィスタチンの形式全合成

続いて、**24** をシリルケテンアセタール **25** とし、インドール誘導体 **26** とのカップリング反応に続いて **27** の速度論的プロトン化を行い、高立体選択的に *cis*-配置を有するラクトン **28** を得た。次に、**28** からアセトニトリルの付加を経てアリルアセテート **29** に変換後、強塩基存在下、Pd 触媒反応を試みたところ、**29** から発生したエノラートのアリル化とアリール化が一挙に進行し、ビシクロ[4.3.1]デカノン骨格をもつ環化体 **30** が 2 種のジアステレオマー混合物として生成した。さらに、**30** から位置及び立体選択的メチル化を経てケトン **31** に変換後、シアノ基のアルデヒド基への還元と酸化を行い、既知の Rawal 中間体 **32** に導き、ウェルウィスタチンの形式全合成を達成した。

(4) カイトセファリンの全合成:

カイトセファリンは、真菌より単離された天然アミノ酸であり、グルタミン酸受容体に対し強力なアンタゴニスト活性を示すことより、脳神経疾患治療薬のリード化合物として注目されている。しかし、現在では、真菌のカイトセファリンの産生が途絶えており、合成による供給や誘導体化が望まれている。まず、エナンチオ純粋な **33** のヒドロホウ素化体と **34** との鈴木-宮浦カップリングから出発し、Overman 転位を経てスルファメート **36** を立体選択的に得た。続いて、**36** を PhI(OAc)₂ 共存下触媒量の Rh₂(OAc)₄ と反応させ C-H アミノ化後、生成する環状スルファメートを Boc 化で活性化し、塩基処理することにより、高収率でスピロ体 **37** を合成した。次に、**27** からカルバメート **38** に導き、再度 C-H アミノ化反応に付し、**39** を良好な収率で得た。最後に、4-アセトキシ-3,5-ジクロロベンゾイル基を導入後、Boc 化、フェニル基とオレフィン部の酸化的開裂、脱保護を経てカイトセファリンの全合成を達成した。

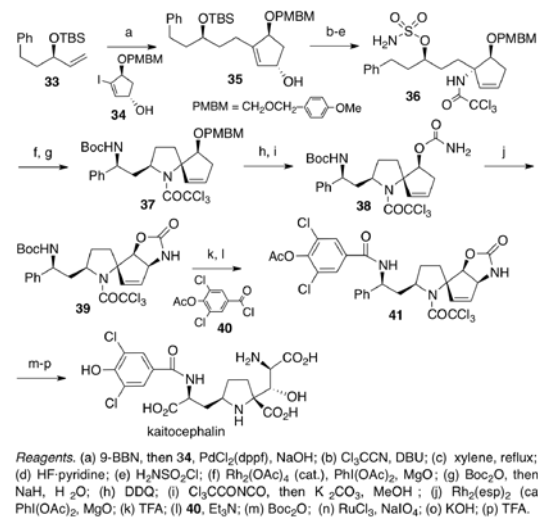


図 4: カイトセファリンの全合成

(5) **新規複素環合成法の開発**: 新たな複素環合成法を開発すべく、カイトセファリンの合成の途上で見出した Rh 触媒 C-H アミノ化に基づくピロリジン環形成法について詳細に調べた。すなわち、**42** を $\text{Rh}_2(\text{OAc})_4/\text{PhI}(\text{OAc})_2$ と反応後 Boc 化し環状スルファメート **43** を得、種々の塩基性条件下で $\text{S}_{\text{N}}2$ 型環化を検討した。その結果、氷冷下 **43** の DMF 溶液に NaH に続いて水を投入すると、ピロリジン環形成が瞬時に起こり、**44** が高収率で生成することを見出した。興味深いことに、無水条件では環化は起こらず、水が環状スルファメートの活性化に何らかの寄与をしていることが示唆された。また、水の代わりにメタノールを添加しても同様の効果が観察された。本法は様々な置換ピロリジンの合成に適用でき、反応点近傍に 4 級中心をもつ基質であっても収率良く環化が進行した。さらに、本法はピペリジン、テトラヒドロフラン、テトラヒドロチオフェン誘導体の合成にも適用できることが分かった。また、ワンポットで Boc 化に続く塩基処理を行い、環化体を得ることが可能であることも見出した。

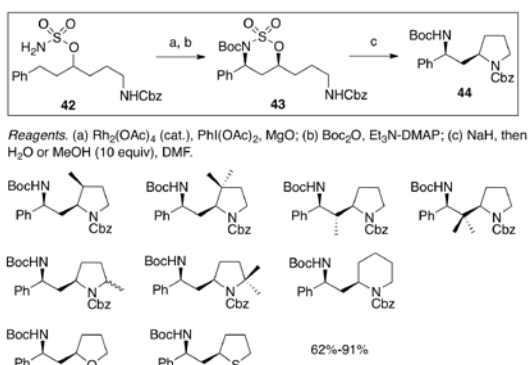


図 5: C-H アミノ化に基づく複素環合成法

(6) **NW-G01 の全合成**: NW-G01 は、放線菌の培養液から単離された環状ヘキサペプチドであり、MRSA を含むグラム陽性菌に対して強力な抗菌活性を示す。このことから、本化合物は新規抗生物質の開発のリードとして期待が持たれている。まず、5-クロロ-2-ヨードアニリン **45** とアルデヒド **46** との Pd 触媒インドール合成から出発し、トリプトファン誘導体 **47** を得た。続いて、*N*-フェニルセレンオフタルイミド (*N*-PSP) により、立体選択的に閉環させセレニド **48** とした後、*m*CPBA 酸化、メチルエステルのアリルエステルへの変換等を含む 4 段階操作で **49** に変換した。続いて、アラニンとピペラジン酸から誘導した **50** を連結し **51** とした後、さらにジペプチド **52** と縮合させ、ヘキサペプチド **53** に導いた。最後に、アリル基と Fmoc 基を除去後、環状ペプチドの形成と脱保護を経て、NW-G01 の初の全合成を達成した。また、この合成によって、当初の提出構造の 34 位の立体配置の誤

りを訂正できた。

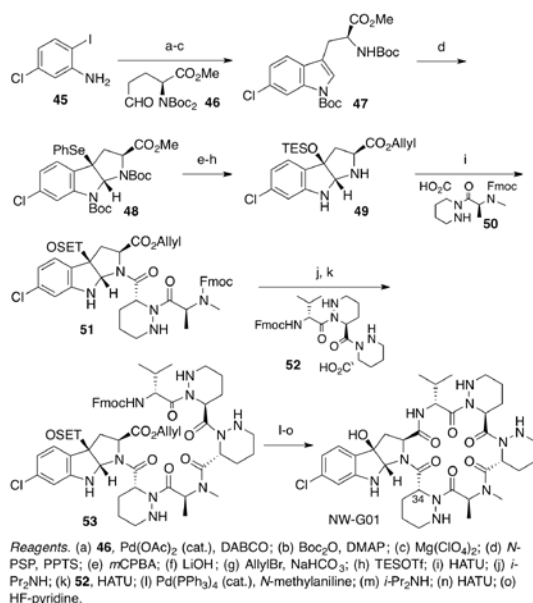


図 6: NW-G01 の全合成

(7) **エングレリン A の全合成**: エングレリン A は東アフリカ産のコミカンソウの樹皮より単離されたセスキテルペンである。本化合物は腎臓がん細胞に対して nM レベルで増殖抑制活性を示すことから、抗腎臓がん薬開発のリードとして期待されている化合物である。まず、既知の光学活性 δ -ラクトン **54** から、Sharpless 不斉エポキシ化を含む 8 段階操作でエポキシニトリル **55** とした。続いて、**55** をベンゼン中室温下 NaHMDS で処理すると、環化が高立体および位置選択的に進行し、目的とする立体配置を有するシクロペンタン誘導体 **56** が収率良く得られた。次に、**56** から **57** へと導き、この段階で **58** との Barbier 型反応を種々の条件下検討した。その結果、In 金属を用いる条件で **59** が高収率、高立体選択的に得られることを見いだした。

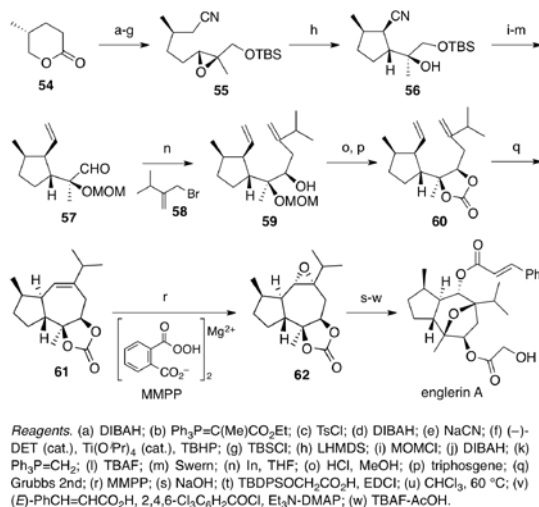


図 7: エングレリン A の全合成

このカップリング体 59 から環状カーボネート 60 に変換後、オレフィンメタセシス、エポキシ化、グリコール酸エステル化、エーテル架橋、桂皮酸エステル化を順次行い、エングレリン A の全合成を達成した。

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 15 件)

- ① Madoka Yoshino, Kohei Eto, Keisuke Takahashi, Jun Ishihara, Susumi Hatakeyama, Organocatalytic Asymmetric Syntheses of Inthomycins A, B and C, *Org. Biomol. Chem.*, **10**, 8164-8174 (2012). DOI: 10.1039/c2ob26084k, 査読有
- ② Keisuke Takahashi, Keita Komine, Yuichi Yokoi, Jun Ishihara, Susumi Hatakeyama, Stereocontrolled Total Synthesis of (-)-Englerin A, *J. Org. Chem.*, **77**, 7364-7370 (2012). DOI: 10.1021/jo301145r, 査読有
- ③ Keisuke Takahashi, Daisuke Yamaguchi, Jun ishihara, Susumi Hatakeyama, Total Synthesis of (-)-Kaitocephalin Based on a Rh-Catalyzed C-H Amination, *Org. Lett.*, **14**, 1644-1647 (2012). DOI: 10.1021/ol300431n, 査読有
- ④ Kohei Eto, Madoka Yoshino, Keisuke Takahashi, Jun Ishihara, Susumi Hatakeyama, Total Synthesis of Oxazolomycin A, *Org. Lett.*, **13**, 5398-5401 (2011). DOI: 10.1021/ol202306d, 査読有
- ⑤ Setsuya Shibahara, Takaaki Matsubara, Keisuke Takahashi, Jun Ishihara, Susumi Hatakeyama, Total Synthesis of NW-G01, a Cyclic Hexapeptide Antibiotic, and 34-epi-NW-G01, *Org. Lett.*, **13**, 4700-4703 (2011). DOI: 10.1021/ol201912w, 査読有
- ⑥ Shaheem M. Sarkar, Yuko Taira, Ayako Nakano, Keisuke Takahashi, Jun Ishihara, Susumi Hatakeyama, Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Quinine and Quinidine, *Tetrahedron Lett.*, **52**, 923-927 (2011). DOI: 10.1016/j.tetlet.2010.12.066, 査読有
- ⑦ Keisuke Takahashi, Susumi Hatakeyama, Indium-catalyzed Conia-ene Reaction and Total Syntheses of Biologically Active Alkaloids, *J. Synth. Org. Chem. Jpn.*, **68**, 951-961 (2010). DOI: 10.5059/yukigoseikyokaishi.68.951, 査読有
- ⑧ Jun Ishihara, Yuki Watanabe, Noriko Koyama, Yukihiro Nishino, Keisuke Takahashi, Susumi Hatakeyama, New Variant of Reformasky-Claisen Rearrangement Mediated by Indium Chloride, 22nd French-Japanese Symposium of Medicinal and Fine

[学会発表] (計 66 件)

- ① Susumi Hatakeyama, α -Isocupreine, an Enantiocomplementary Catalyst of β -Isocupreidine, First Japan-USA Organocatalytic Symposium, Hawaii (USA), December 17 (2012).
- ② Keisuke Takahashi, Disuke Yamaguchi, Jun Ishihara, Susumi Hatakeyama, New Entry to Substituted Pyrrolidines Based on a Rh-Catalyzed C-H Amination: Synthesis of Kaitocephalin, The 12th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-12), Kyoto (Japan), November 14 (2012).
- ③ 江藤 康平, 高橋圭介, 石原 淳, 畑山 範, ラジオラマイシンの合成研究, 第 42 回複素環化学討論会, 京都, 2012 年 10 月 13 日
- ④ Kohei Eto, Madoka Yoshino, Keisuke Takahashi, Jun Ishihara, Susumi Hatakeyama, Organocatalytic Asymmetric Synthesis of Inthomycin A, B and C, 8th AFMC International Medicinal Chemistry Symposium, Tokyo (Japan), December 2 (2011).
- ⑤ 小嶺敬太, 野村祐介, Cyril Pieri, 高橋圭介, 石原 淳, 畑山 範, Welwitindolinone アルカロイドの合成研究, 第 38 回反応と合成の進歩シンポジウム, 東京, 2012 年 11 月 7 日
- ⑥ 高橋圭介, 横井裕一, 小嶺敬太, 石原 淳, 畑山 範, エングレリン A の全合成, 第 37 回反応と合成の進歩シンポジウム, 徳島, 2011 年 11 月 7 日
- ⑦ 高橋圭介, 山口大介, Lu Shenlei, 石原 淳, 畑山 範, C-H アミノ化を基盤とするカイトセファリンの全合成研究, 第 53 回天然有機化合物討論会, 大阪, 2011 年 9 月 29 日
- ⑧ Jun Ishihara, Yuki Watanabe, Noriko Koyama, Yukihiro Nishino, Keisuke Takahashi, Susumi Hatakeyama, New Variant of Reformasky-
- ⑨ Claisen Rearrangement Mediated by Indium Chloride, 22nd French-Japanese Symposium of Medicinal and Fine

Chemistry, Rouen (France), September 12 (2011).

- ⑩ Setsuya Shibahara, Takaaki Matsubara, Keishke Takahashi, Jun Ishihara, Susumi Hatakeyama, Total Synthesis of Chloptosin, The 2010 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Hawaii (USA), December 19 (2010).
- ⑪ 芝原攝也, 松原孝昌, 高橋圭介, 石原 淳, 畑山 範, ピロロインドリン含有環状ヘキサペプチド類の合成研究, 第36回反応と合成の進歩シンポジウム, 名古屋, 2010年11月2日
- ⑫ 江藤康平, 吉野円香, 高橋圭介, 石原 淳, 畑山 範, インソマイシン及びオキサゾロマイシン類抗生物質の合成研究, 第52回天然有機化合物討論会, 静岡, 2010年10月1日

[図書] (計2件)

- ① Susumi Hatakeyama, *Science of Synthesis: Asymmetric Organocatalysis 1 Lewis Base and Acid Catalysis*; Benjamin List Ed.; Georg Thieme Verlag: New York, pp 673-721, 2011.
- ② 畑山 範, 高橋圭介, 天然物合成で活躍した反応-実験のコツとポイント (有機合成化学協会 編), 化学同人, pp 20-21, pp 50-51, pp 58-59, pp 186-187, 2011.

[産業財産権]

○出願状況 (計1件)

名称: 新規キノリン誘導体およびこれを含む有機触媒

発明者: 畑山 範、石原 淳、高橋圭介、中本義人

権利者: 長崎大学

種類: 特許

番号: 特願 2012-253343

出願年月日: 2012. 11. 19

国内外の別: 国内

[その他]

ホームページ等

<http://www.ph.nagasaki-u.ac.jp/lab/manufac/index-j.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

畑山 範 (HATAKEYAMA SUSUMI)
長崎大学・医歯薬学総合研究科・
教授

研究者番号: 20143000

(2) 研究分担者

石原 淳 (ISHIHARA JUN)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・
准教授

研究者番号: 80250413

高橋 圭介 (TAKAHASHI KEISUKE)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・
助教

研究者番号: 60380854