

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 24 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24710249

研究課題名(和文)強力なアセチルコリン受容体阻害活性を有するスピロリドCの全合成とその作用機構解明

研究課題名(英文) Total synthesis of spirolide C for elucidation of its potent inhibitory mechanism on acetylcholine receptors

研究代表者

土川 博史 (TSUCHIKAWA, HIROSHI)

大阪大学・理学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：30460992

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)：スピロリドCの全絶対立体配置の決定を目的として、全合成研究を行った。まず6,5,5-ビススピロアセタールの合成について、架橋構造を有する環化前駆体を効率的に合成し、配座制御による立体選択的スピロ環化反応を検討した。目的の異性体を主生成物として得ることはできなかったものの、生成物の構造解析手法など今後の展開に重要な知見を蓄積した。また7,6-スピロイミン部分の合成については、2-シリル化ジエンインと $\alpha$ -メチレン- $\epsilon$ -ラクタムを用いたDiels-Alder反応を開発し、目的とするスピロラクタム化合物を高選択的に得ることに成功した。

研究成果の概要(英文)：For total synthesis of spirolide C, the synthesis of two main structures (6,5,5-bisspiroacetal unit and 7,6-spiroimine unit) has been investigated. First, the synthesis of 6,5,5-bisspiroacetal was attempted via the conformationally-restricted spirocyclization using a linker-tethered precursor. Although the key spirocyclization resulted in the selective formation of the undesired isomer, the important knowledge such as how to analyze the structure of products was obtained, which should be informative for future development. Next, for the construction of the 7,6-spiroimine unit, the selective Diels-Alder reaction using 2-silyl-dienyne and  $\alpha$ -methylene- $\epsilon$ -lactam was successfully developed to give the desired exo-cycloadduct with high selectivity.

研究分野：天然物化学、合成有機化学

キーワード：スピロリド スピロアセタール Diels-Alder反応 構造解析 化学合成

### 1. 研究開始当初の背景

スピロリド C (SPX C) は、アセチルコリン受容体に結合して強力なマウス急性致死毒性を引き起こす興味深い海産毒である。しかしながら単離されて以来 15 年以上が経過した現在においても、その詳細な作用機構はおろか未だにその全絶対立体配置も明らかにされていない。その最大の要因として、SPX の構造的特徴に起因する合成および構造研究の困難さが挙げられる。まず合成的には、SPX 類にのみ存在する 5 員環-5 員環のスピロアセタール骨格(C,D 環部分)が非常にフレキシブルであり、その立体選択的な構築を極めて困難なものにしている。さらに、不安定な $\gamma$ -ブテノリド(F 環)が直結した 7,6-スピロイミン骨格(A,E 環)についても、同族の海産毒であるピンナトキシン(PnTX)やギムノジミン(GYM)の両方の難点を併せ持つ構造と言え、全合成の大きな障害となっている。また構造研究の観点からも、本質的に配座が定まりにくい 5,5-スピロアセタール部分の立体配置を NMR より予想することは困難であり、NMR と分子モデリングにより推定された 13,19- didesMe SPX C(13,19 位のメチル基の無い類縁体)の全相対立体配置にも疑問が残される。特に 4 位の立体化学については $\gamma$ -ブテノリド環が基本的に自由回転可能であるため、その予想には大きな不確定要素が含まれている。以上のような合成的困難さや推定構造情報に残される曖昧さ、さらには類縁化合物である PnTX 類のエlegantな全合成研究も相まって、スピロリド類の合成化学的研究は積極的に行われてこなかったというのが実状と言える。しかしながら、SPX 類は極めて挑戦的な合成ターゲットであることに変わり無く、生化学的重要性を含む学術的見地からも、その全合成および全絶対立体配置の決定が強く望まれている。

### 2. 研究の目的

本研究では、SPX C の全合成を達成することで、その全絶対立体配置を決定することを目的とした。すなわち、まずは SPX を特徴づける 2 つの鍵ユニットである 6,5,5-ビススピロアセタール骨格と 7,6-スピロイミン部分の効率的な立体選択的合成法を確立することとした。続いて両ユニットの連結、 $\gamma$ -ブテノリド環の構築、スピロイミンの形成により全合成を達成することで、4 位を含む SPX C の完全立体構造を明らかにし、作用機構解明研究への展開を図ることとした。

### 3. 研究の方法

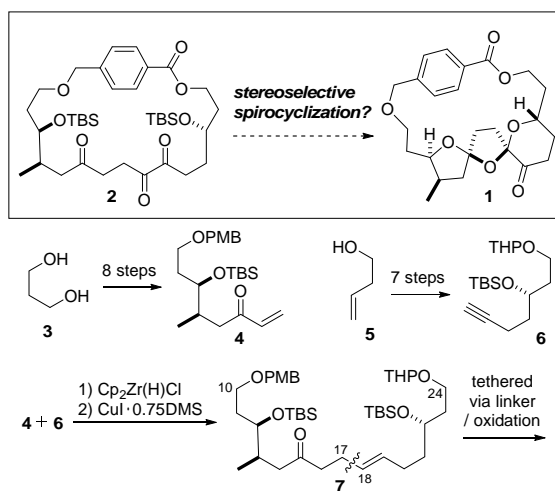
まずは SPX C の全合成における最重要課題である(1) 6,5,5-ビススピロアセタールユニットの高立体選択的構築、および(2) 7,6-スピロイミンユニットの効率的合成を行うこととした。まず(1)について、その戦略として環化前駆体の両端をリンカーで架橋し、配座制御による立体選択的スピロ環化反応を

検討することとした。次に(2)の合成戦略として、7 員環ラクトン構造に由来する *exo*-選択性を期待し、不斉金属触媒を用いたエナンチオ選択的 Diels-Alder 反応を行うことで、7 位、29 位の立体化学を構築することとした。その後、両ユニットのカップリングおよび環化を行い、最後に不安定な $\gamma$ -ブテノリド環、スピロイミン環の形成を行い、SPX C の全合成および全絶対立体配置の決定を行う。

### 4. 研究成果

(1) 配座制御による立体選択的スピロアセタール化反応を鍵とした 6,5,5-ビススピロアセタール環部分の合成研究

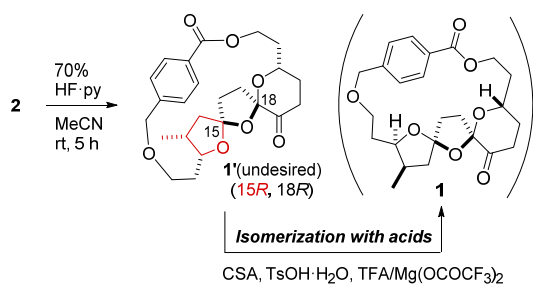
合成戦略として環化前駆体の両端をリンカーで架橋し、配座制御による立体選択的スピロ環化反応を行うこととした。すなわち天然物の員数や MD 計算の結果を考慮し、望む立体異性体が熱力学的に有利になると予想される化合物(1)をデザインし、前駆体(2)からの環化反応を検討することとした(スキーム 1)。まず C10-C24 位の全炭素骨格の効率的な構築法の確立を目指し、オレフィン(7)を 17,18 位でのカップリングにより合成することを検討した。すなわちジオール(3) からエノン(4)を 8 段階、ブテノール(5)からアセチレン(6)を 7 段階でそれぞれ合成し、これらのカップリング反応を種々検討したところ、ヨウ化銅を触媒とした場合に反応が進行することを見出し、目的のオレフィン(7)を高収率で得ることに成功した。続いて両末端の 1 級アルコールを順次脱保護してリンカーを導入し、オレフィン部をジケトンに酸化することで、架橋環化前駆体(2)の合成を達成した。



Scheme 1

次に鍵反応となる脱シリル化、スピロ環化反応を検討した(スキーム 2)。化合物 2 の環構造による立体障害およびトリケトン部分の不安定性により、シリル基の除去は困難であったが、条件検討の結果 70%フッ化水素ピリジンをを用いたときにのみ反応が進行することを見出した。主生成物について各種各種

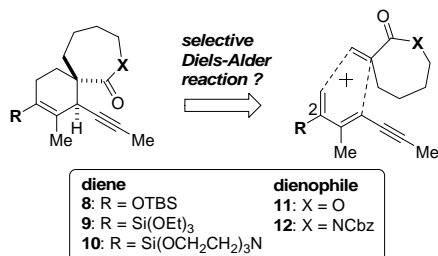
NMR 測定により構造解析を行った結果、望む 6,5,5-ビススピロアセタール環が形成されていることを確認したが、予想に反し 5,5-スピロ中心が非天然型の異性体(1', 15R 体)であることが判明した。続いて本化合物に対して、CSA やトリル酸など酸触媒による異性化反応を試みたところ、異性化反応は進行するものの、副生成物として中央の 5 員環が芳香環化したフラン誘導体が主として得られることが明らかとなった。現段階で望みのビススピロアセタール体を主生成物として得ていないが、反応生成物の構造解析および副生成物の精査により、目的の立体選択的変換を実現するための知見を蓄積しつつある。今後はルイス酸を用いた異性化や、異なる架橋構造を有する基質での検討を予定している。



Scheme 2

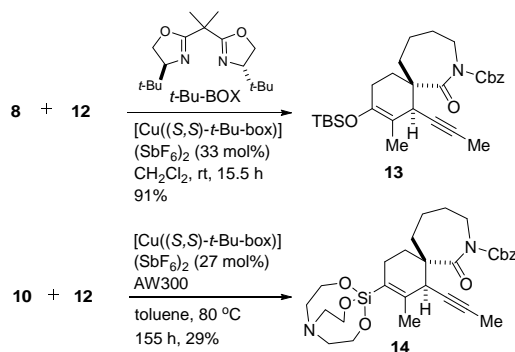
(2) 7,6-スピロイミン部分(A,E 環)の効率的合成を目指した選択的 Diels-Alder 反応の開発

A, E 環部分の効率的合成を目指し、位置および立体選択的な Diels-Alder 反応の開発を行った。まずジエン基質として、後の B/C/D 環との連結および F 環の構築を簡便にすべく、2 位エノールエーテル化(8) または直接シリル化(9, 10) したジエンインを用いることとした(スキーム 3)。またジエノフィルとしてはまずはジメチル基の無いモデル基質で検討することとし、 $\alpha$ -エキソメチレンカルボニル基を有する 7 員環化合物(11, 12)を用いて、望む位置および *exo* 選択性を制御することを考えた。ジエン基質については、2,4-ヘキサジンの *E*-選択的ヒドロシズ化を鍵反応とし、続く Stille カップリング、配位子交換を経て、トリエトキシシリルジエンイン 9 およびシラトランジエンイン 10 を合成した。TBS エーテルジエンイン 8 については文献の方法に従い調製した。一方ジエノフィルについては、市販の 7 員環ラクトンおよびラクタムの  $\alpha$  位をメチレン化することで簡便に合成した。



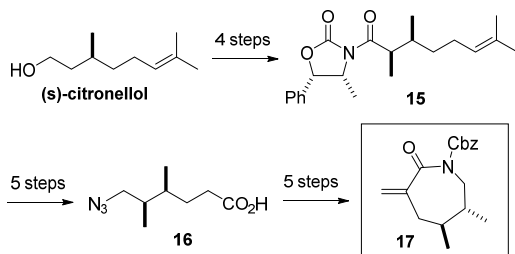
Scheme 3

合成した種々のジエンおよびジエノフィルを用いて Diels-Alder 反応を検討した結果、ジエノフィルとしてラクタム 12 を用いた場合に望む反応が進行することを見出した(スキーム 4)。すなわち、TBS エーテルジエンイン 8 を BOX-銅錯体触媒存在下室温で 15 時間反応させたところ、望む *exo*-環化付加体 13 を高収率で得ることに成功した。また、 $\gamma$ -ブテノリド環の導入がより容易となるシラトランジエンイン 10 を用いた場合も、低収率ながら目的とする環化付加体を得ることに成功した。



Scheme 4

次に実際のジエノフィルを用いて選択的 Diels-Alder 反応を検討するために、不斉ジメチル基を有する  $\alpha$ -メチレン- $\varepsilon$ -ラクタムの合成を実施した(スキーム 5)。出発原料の(*s*)-シトロネロールを酸化し、キラル補助基を導入後、 $\alpha$ 位の立体選択的メチル化を行うことで、不斉ジメチル構造を構築した。続いて 5 段階でアジドカルボン酸 16 とし、アジド基を還元してアミンとした後、シリカゲル共存下での環化反応によりラクタムへと変換した。最後に  $\alpha$ 位のメチレン化を行うことで目的とするジエノフィル基質 17 の合成に成功した。今後は TBS エーテルジエンイン 8 と 17 の Diels-Alder 反応およびその後の変換による A,E,F 環ユニットの合成を予定している。



Scheme 5

現段階で(1)については望みのビススピロアセタール体を主生成物として得ていないが、本戦略による変換の可能性は示された。(1)および(2)において合成する 2 つのユニットから環構造を順次構築することで全合成を実現できると考えている。

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 6 件)

1. Sarah A. Goretta, Masanao Kinoshita, Shoko Mori, Hiroshi Tsuchikawa, Nobuaki Matsumori, Michio Murata; Effects of chemical modification of sphingomyelin ammonium group on formation of liquid-ordered phase.; *Bioorg. Med. Chem.* **2012**, *20*, 4012-4019.
2. Nobuaki Matsumori, Tomokazu Yasuda, Hiroki Okazaki, Takashi Suzuki, Toshiyuki Yamaguchi, Hiroshi Tsuchikawa, Mototsugu Doi, Tohru Oishi, Michio Murata; Comprehensive Molecular Motion Capture for Sphingomyelin by Site-Specific Deuterium Labeling; *Biochemistry* **2012**, *51*, 8363-8370.
3. Shintaro Fujita, Taku Sakaguchi, Toyoharu Kobayashi, Hiroshi Tsuchikawa, Shigeo Katsumura; Total Synthesis of (-)-Hippodamine by Stereocontrolled Construction of Azaphenalene Skeleton Based on Extended One-Pot Asymmetric Azaelectrocyclization; *Org. Lett.* **2013**, *15*, 2758-2761.
4. Masanao Kinoshita, Sarah Goretta, Hiroshi Tsuchikawa, Nobuaki Matsumori, Michio Murata; Characterization of the ordered phase formed by sphingomyelin analogues and cholesterol binary mixtures; *Biophysics* **2013**, *9*, 37-49.
5. Hajime Shibata, Hiroshi Tsuchikawa, Nobuaki Matsumori, Michio Murata, Takeo Usui; Design and Synthesis of 24-Fluorinated Bafilomycin Analogue as an NMR Probe with Potent Inhibitory Activity to Vacuolar-type ATPase; *Chem. Lett.* **2013**, *43*, 474-476.
6. Yasuo Nakagawa, Yuichi Umegawa, Tetsuro Takano, Hiroshi Tsuchikawa, Nobuaki Matsumori and Michio Murata; Effect of Sterol Side Chain on Ion Channel Formation by Amphotericin B in Lipid Bilayers; *Biochemistry* **2014**, *53*, 3088-3094.

[学会発表](計 10 件)

1. 土川博史, 脂質膜中で形成される分子複合体の構造解析を目指した標識化天然物の合成研究, 平成 24 年度関学化学フォーラム, 2013 年 1 月, 兵庫
2. 脇坂智広, 土川博史, 松森信明, 村田道雄, 海洋生物毒スピロリド C の全合成に向けた 5,5,6-ビススピロケタール環部分の構築, 第 93 春季年会, 2013 年 3 月, 滋賀
3. 野村拓人, 土川博史, 松森信明, 村田道雄, CD1d との複合体における X 線精密

構造解析を目指した標識化  $\alpha$ -ガラクトシルセラミドの合成研究, 第 93 春季年会, 2013 年 3 月, 滋賀

4. Hiroshi Tsuchikawa, Tomohiro Wakisaka, Yoshifumi Yasukawa, Michio Murata, Stereocontrolled synthesis of the 5,5,6-bispiroacetal ring moiety of spirolide C, The First Asian Conference for "MONODUKURI" Strategy by Synthetic Organic Chemistry (ACMS), 2013, July, Okinawa, Japan
5. 土川博史, 膜タンパク質に結合する生理活性天然物の誘導体合成と相互作用解析, 「生物機能の高度利用を目指した応用微生物学研究拠点」第 3 回セミナー, 2013 年 9 月, 茨城
6. 林 翔, 土川博史, 松森信明, 村田道雄, 海洋生物毒スピロリド C の A, E, F 環部分の効率的合成を目指した選択的 Diels-Alder 反応の検討, 第 3 回 CSJ 化学フェスタ, 2013 年 10 月, 東京
7. 林 翔, 土川博史, 松森信明, 村田道雄, 海洋生物毒スピロリド C のスピロイミン環部分の効率的合成を目指した選択的 Diels-Alder 反応の検討, 第 94 春季年会, 2014 年 3 月, 愛知
8. 安川佳史, 脇坂智広, 土川博史, 村田道雄, 海洋生物毒スピロリド C の全合成を目指した 6,5,5-ビススピロアセタール環の合成研究, 第 34 回有機合成若手セミナー, 2014 年 8 月, 大阪
9. Yoshifumi Yasukawa, Tomohiro Wakisaka, Hiroshi Tsuchikawa and Michio Murata, Stereoselective Construction of 6,5,5-Bis-spiroacetal Ring of Spirolide C, The 4th Junior International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (JICCEOCA-4), 2014, November, Thailand
10. 安川佳史, 土川博史, 脇坂智広, 村田道雄, 配座制御による立体選択的アセタール化反応を鍵としたスピロリド C のスピロアセタール環部分の合成研究, 第 95 春季年会, 2015 年 3 月, 東京

6. 研究組織

(1) 研究代表者

土川 博史 (TSUCHIKAWA HIROSHI)  
大阪大学・大学院理学研究科・助教  
研究者番号: 30460992

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし