

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25282228

研究課題名(和文) 複雑マクロリド天然物を構造基盤とする新規生体機能分子の創製と機能解析

研究課題名(英文) Synthesis and functional analysis of novel biologically active molecules based on complex macrolide natural products

研究代表者

佐々木 誠 (Sasaki, Makoto)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：80235267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,300,000円

研究成果の概要(和文)：強力かつ重要な生物活性を示す海洋マクロリド天然物の機能解析を目的とし、効率的な全合成研究を行った。細胞骨格タンパク質アクチンに作用するポリエーテルマクロリド、ゴニオドミンAに関して、全合成に必要な3つのフラグメントのグラムスケールでの合成ルートを確立し、Stille型カップリングおよびエステル化によりフラグメントを連結し、分子内野崎-檜山-岸反応によりマクロラクトン骨格の構築に成功した。致死性海産毒ポリカバノシドBの改良合成ルートを確立し、世界初の全合成を達成した。強力な細胞毒性を示すマクロリド、アンフィジノリドNのC1-C13およびC8-C29フラグメントの収束的合成法を確立した。

研究成果の概要(英文)：Our research focused on the efficient total synthesis of structurally complex marine macrolide natural products with significant biological activities to investigate and exploit their biological functions. A convergent synthesis of a fully functionalized macrolactone core of goniodomin A, a polyether macrolide that targets actin cytoskeleton, has been accomplished. An efficient, convergent total synthesis of polycavernoside B, a lethal glycosidic macrolide isolated from the red alga, has been achieved for the first time. In addition, efficient synthetic routes to the C1-C13 and C8-C29 fragments of amphidinolide N, an extremely potent cytotoxic macrolide, have been developed in a convergent manner.

研究分野：天然物合成化学

キーワード：海洋天然物 マクロリド 全合成 生体機能分子 機能解析

1. 研究開始当初の背景

海洋生物由来のマクロリド天然物には、特異な作用機序で強力な細胞毒性や細胞増殖阻害活性を示すものが見出されており、新たな抗がん剤リード化合物や生命現象のツール分子として大きな期待が寄せられている。しかし、海洋天然物の多くは、自然界から極微量しか得られず、しかも複雑な構造から化学合成による量的供給に問題を生じ、詳細な化合物評価や作用機序解析における大きな障害となっている。これら複雑天然物の量的供給による創薬研究を実現するためには、革新的な合成手法・合成戦略の導入による全合成ルートの短工程化・超効率化が鍵を握る。また、生物活性天然物の立体化学は、生物活性の本質の解明にとって必要不可欠な情報であるが、分析技術が目覚ましく発展を遂げた現在においても、複雑天然物の立体構造の確認・決定における天然物全合成の重要性は益々大きくなりつつある

2. 研究の目的

本研究では、強力かつ重要な生物活性を示す巨大複雑マクロリド天然物を研究対象として、量的供給を可能にする実用的合成ルートを確認し、全立体構造の確定を行う。さらに、詳細な生物活性評価と多様な人工類縁体の網羅的合成を行うことにより、新しい生体機能分子の創製と機能解析を目指した。具体的には、細胞骨格タンパク質アクチンに作用するポリエーテルマクロリド・ゴニオドミン A、最強クラスの細胞毒性を示すマクロリド・アンフィジノリド N、強力な致死毒性を有する配糖体マクロリド・ポリカバノシド B の実践的全合成ルートの開発と機能解析に取り組んだ。

3. 研究の方法

(1) ゴニオドミン A の全合成研究

従来の合成法を改良し、全合成に必要な 3 つのフラグメント 2~4 のグラムスケールでの合成ルートを確認する。次いで、フラグメントを順次連結し、分子内野崎-檜山-岸 (NHK) 反応によりマクロラクトン骨格を構築し、最後に B/C 環スピロアセタールを合成することにより、ゴニオドミン A の全合成を行うことを計画した (図 1)。

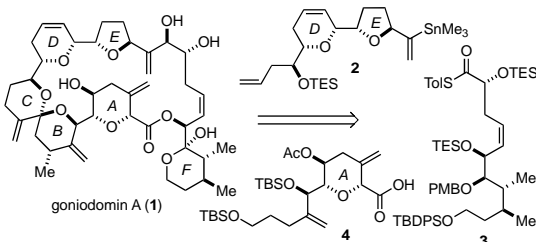


図 1 ゴニオドミン A の合成計画

(2) ポリカバノシド B の全合成研究

既に報告したポリカバノシド A の全合成

では、C9-C16 フラグメント 8 の合成に多段階を要する点で課題を残していた。本研究では、当該フラグメントの短段階合成法を開発し、この問題点を解決する。さらに、鈴木-宮浦反応によるフラグメント連結、マクロラクトン化を経て重要中間体 6 をグラムスケールで合成し、側鎖および二糖部分の導入を経てポリカバノシド B (5) の全合成と構造の確認を行い、構造活性相関研究へと展開する (図 2)。

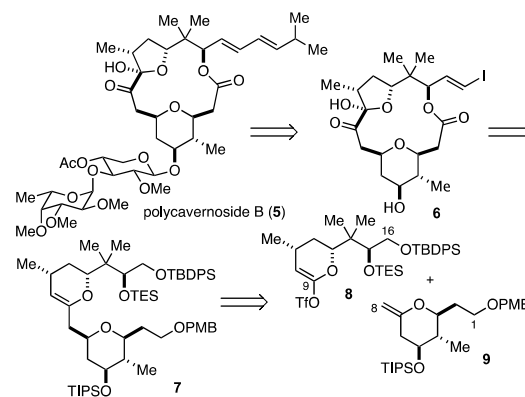


図 2 ポリカバノシド B の合成計画

(3) アンフィジノリド N の全合成研究

アンフィジノリド N (10) に関しては立体構造の不確定性が示唆されたので、複数の立体異性体の合成を視野に入れた柔軟性の高い全合成ルートとして、2 つのフラグメント 11, 12 を連結して分子を組み立てる収束的合成を計画した (図 3)。

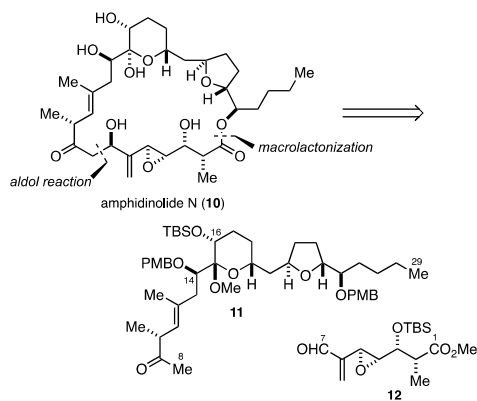


図 3 アンフィジノリド N の合成計画

4. 研究成果

(1) ゴニオドミン A の全合成研究

従来の合成法の問題点を解決し、収束的かつ立体選択的な C12-C36 フラグメントの合成ルートを確認した。アルコール 13 から誘導したジオール 14 に対して不斉エポキシ化と 5-exo 環化を連続的に行い、E 環 15 を合成した。アルデヒド 16 へと変換後、Wittig 反応による増炭、還元的エーテル化により D 環 20 を合成し、キレーション制御による立体選択的アリル化を経て C12-C25 ビニルスズ 2 へと誘導した (図 4)。

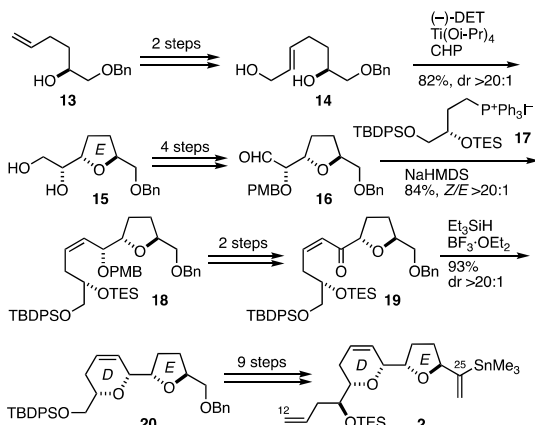


図4 ビニルスズ2の合成

次に、アルコール 21 から分子内 Wittig 反応を鍵工程として不飽和ラクトン 22 を合成し、接触還元により C34 位の不斉点を導入し 23 とした。アルデヒド 24 へと誘導し、ヨウ化ビニル 25 との NHK 反応を経てアリルアルコール 26 へと誘導した。チオエステル 3 へと変換後、ビニルスズ 2 との Stille 型カップリングによりエノン 27 を高収率で得た。さらに 13 段階の変換を経て、C12–C36 フラグメント 28 の合成を完了した (図 5)。

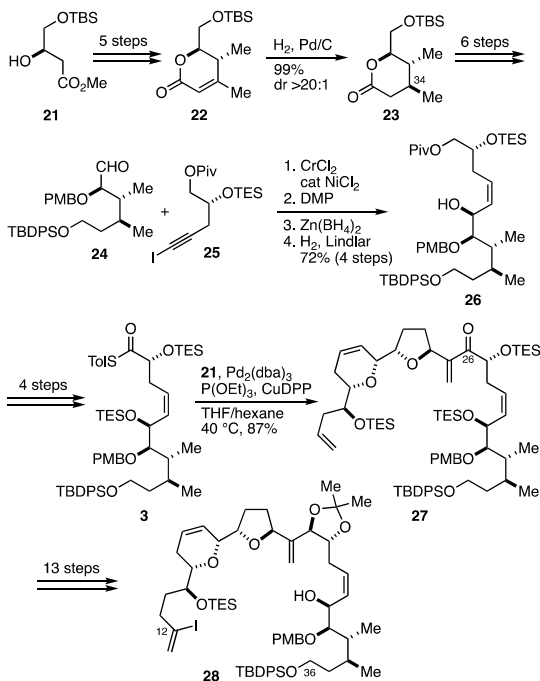


図5 C12-C36 フラグメント 28 の合成

アルデヒド 29 に対してアシルオキサゾリジノン 30 から調製したチタンエノラートを反応させ、高立体選択的に 31 を得た。不斉補助基を還元後、西沢–Grieco 法によりエキソオレフィン 32 とし、さらに 8 段階でカルボン酸 4 を合成した (図 6)。

カルボン酸 4 とアルコール 28 を Keck 法により縮合してエステル 33 とした。さらに、2 段階で誘導したアルデヒド 34 に対して、分

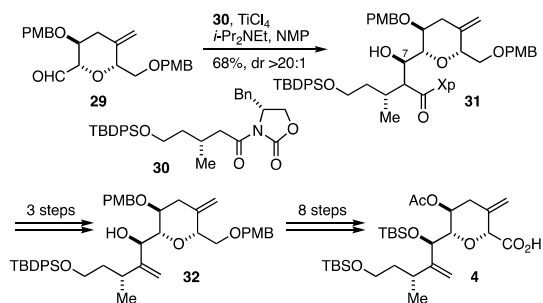


図6 カルボン酸 4 の合成

子内 NHK 反応によりマクロラクトン骨格を構築し、続く酸化によりエノン 35 の合成を達成した。

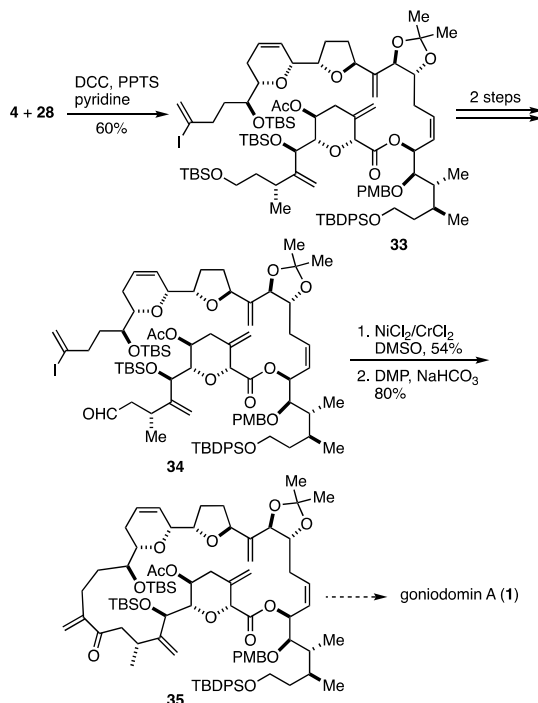


図7 マクロラクトン 35 の合成

(2) ポリカバノシド B の全合成研究

既に報告したポリカバノシド A の全合成では、上部 C9–C16 フラグメントの合成に多段階を要するため合成効率の面で課題を残していた。そこで、清岡らの不斉アルドール反応を利用した短段階合成ルートの開発に取り組んだ。ケテンアセタール 36 とアルデヒド 37 の清岡アルドール反応は高エナンチオ選択的に 38 を与えた。さらに 3 段階で誘導したケトン 39 に対してアート型還元剤によるジアステレオ選択的還元を行い、アルコール 40 を立体選択的に得た (dr 7:1)。さらに、分子内閉環メタセシスと続く接触水素化によりラクトン 42 を合成し、エノールトリフラート 8 へと導いた (図 7)。

次いで、既報に従って鈴木–宮浦反応によるフラグメントの連結、Keck 法によるマクロラクトン化を経て、重要中間体 6 の合成を達成した。さらに、二糖部分およびジエン側鎖の導入を経て、ポリカバノシド B (5) の初の

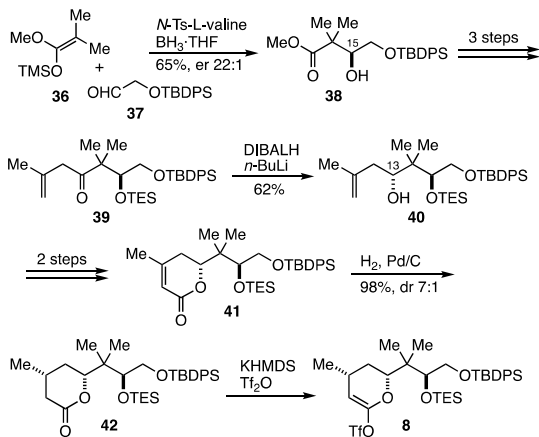


図7 エノールトリフラート **8** の短段階合成

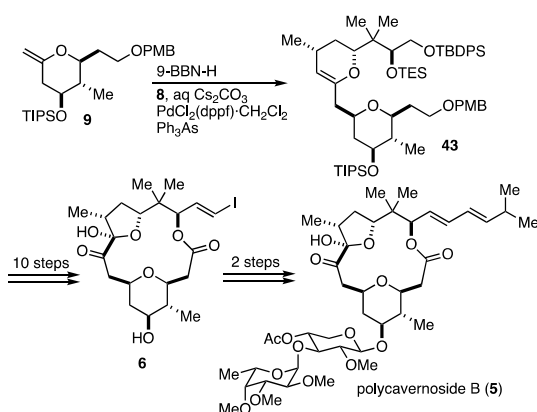


図8 ポリカバノシド B の全合成

全合成を達成した (図 8)。

(3) アンフィジノリド N の全合成研究

化合物 **44** から、ピニロガス向山アルドール反応を鍵反応としてメチルケトン **46** を合成した。また、不斉エポキシ化、Evans アルドール反応によりアルデヒド **12** を合成し、**46** とのアルドール反応によりジアステレオ選択的に C1–C13 セグメント **47** の合成を達成した (図 9)。

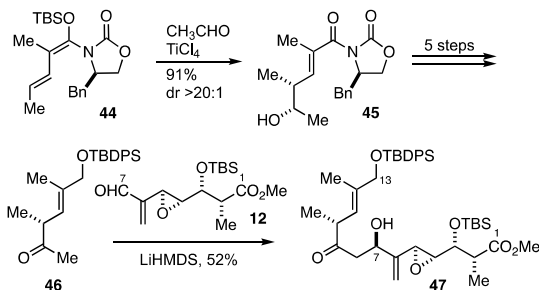


図9 C1–C13 セグメント **47** の合成

不斉ジヒドロキシ化と分子内求核置換反応により合成したテトラヒドロフラン **48** から、Brown 不斉アリル化を経てホモアリルアルコール **49** を合成した。さらに 5 段階でアルコール **50** へと誘導し、別途調製したカル

ボン酸 **51** と DCC 縮合により連結してエステル **52** とし、Tebbe 反応によるエステルカルボニル基のメチレン化と続く Grubbs 第二世代触媒 (G-II) を用いた閉環メタセシスによりジヒドロピラン **53** を得た。エポキシ化と MeOH によるエポキシドの開環によりメチルアセタールとし、 α, α' -ジヒドロキシケトン構造 **54** の立体選択的合成に成功した。さらに、5 段階の変換を経て C8–C29 メチルケトン **11** の合成を達成した (図 10)。

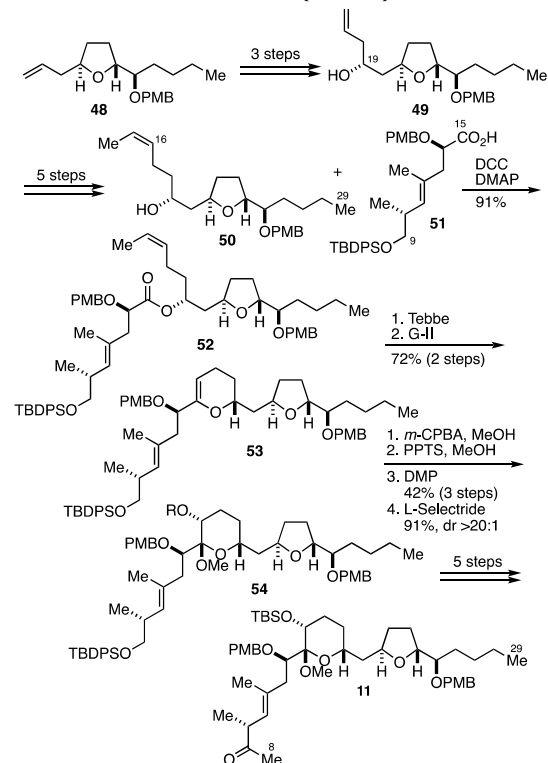


図10 C8–C29 フラグメント **11** の合成

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 28 件)

1. M. Kanto, S. Sato, M. Tsuda, M. Sasaki, Stereodivergent synthesis and configurational assignment of the C1–C15 segment of amphirionin-5, *J. Org. Chem.*, **81**, 9105–9121 (2016). DOI: 10.1021/acs.joc.6b01700. 査読有。
2. A. Toyoshima, M. Sasaki, Toward a total synthesis of amphidinolide N: Convergent synthesis of the C1–C13 segment, *Tetrahedron Lett.*, **57**, 3532–3534 (2016). DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.06.107. 査読有。
3. H. Fuwa, N. Yamagata, Y. Okuaki, Y. Ogata, A. Saito, M. Sasaki, Total synthesis and complete stereostructure of a marine macrolide glycoside, (–)-lyngbyalioside B, *Chem. Eur. J.*, **22**, 6815–6829 (2016). DOI: 10.1002/chem.201600341. 査読有。
4. Y. Kawashima, A. Toyoshima, H. Fuwa, M. Sasaki, Toward the total synthesis of

- amphidinolide N: Synthesis of the C8–C29 fragment, *Org. Lett.*, **18**, 2232–2235 (2016). DOI: 10.1021/acs.orglett.6b00871. 査読有 .
5. B. Espiña, E. Cagide, M. C. Louzao, N. Vilariño, M. R. Vieytes, Y. Takeda, M. Sasaki, L. M. Botana, Cytotoxicity of goniodomin A and B in non contractile cells, *Toxicol. Lett.*, **250–251**, 10–20 (2016). DOI: 10.1016/j.toxlet.2016.04.001. 査読有 .
 6. H. Fuwa, S. Matsukida, T. Miyoshi, Y. Kawashima, T. Saito, M. Sasaki, Progress toward the total synthesis of goniodomin A: Stereocontrolled, convergent synthesis of the C12–C36 fragment, *J. Org. Chem.*, **81**, 2213–2227 (2016). DOI: 10.1021/acs.joc.5b02650. 査読有 .
 7. M. Kanto, M. Sasaki, Synthetic studies on amphirionin-5: Stereochemical assignment/reassignment of the C1–C9 portion through stereodivergent synthesis, *Org. Lett.*, **18**, 112–115 (2016). DOI: 10.1021/acs.orglett.5b03346. 査読有 .
 8. M. Sasaki, Y. Kawashima, H. Fuwa, Studies toward the total synthesis of amphidinolide N: Stereocontrolled synthesis of the C13–C19 segment, *Heterocycles*, **90**, 579–599 (2015). DOI: 10.3987/COM-14-S(K)66. 査読有 .
 9. H. Fuwa, Y. Okuaki, N. Yamagata, M. Sasaki, Total synthesis, stereochemical reassignment, and biological evaluation of (–)-lyngbyalose B, *Angew. Chem., Int. Ed.* **54**, 868–873 (2015). DOI: 10.1002/anie.201409629. 査読有 .
 10. H. Fuwa, T. Noguchi, M. Kawakami, M. Sasaki, Synthesis and biological evaluation of (+)-neopeltolide analogues: Importance of the oxazole-containing side chain, *Biorg. Med. Chem. Lett.*, **24**, 2415–2419 (2014). DOI: org/10.1016/j.mbcl.2014.04.031. 査読有 .
 11. Y. Suga, H. Fuwa, M. Sasaki, Stereoselective synthesis of medium-sized cyclic ethers: Application of C-glycosylation chemistry to seven- to nine-membered lactone-derived thioacetals and their sulfone counterparts, *J. Org. Chem.*, **79**, 1656–1682 (2014). DOI: 10.1021/jo4025545. 査読有 .
 12. H. Fuwa, T. Muto, K. Sekine, M. Sasaki, Total synthesis and structure revision of didemnaketol B, *Chem. Eur. J.*, **19**, 1848–1860 (2014). DOI: 10.1002/chem.201303713. 査読有 .
 13. H. Fuwa, K. Noto, M. Kawakami, M. Sasaki, Synthesis and biological evaluation of aspergillide A/neopeltolide chimeras, *Chem. Lett.*, **42**, 1020–1022 (2013). DOI: 10.1246/cl.130322. 査読有 .
 14. H. Fuwa, K. Sekine, M. Sasaki, Total synthesis of the proposed structure of didemnaketol B, *Org. Lett.*, **15**, 3970–3973 (2013). DOI: 10.1021/ol4017518. 査読有 .
 15. H. Fuwa, M. Kawakami, K. Noto, T. Muto, Y. Suga, K. Konoki, M. Yotsu-Yamashita, M. Sasaki, Concise synthesis and biological assessment of (+)-neopeltolide and a 16-member stereoisomer library of 8,9-dehydroneopeltolide: Identification of pharmacophoric elements, *Chem. Eur. J.*, **19**, 8100–8110 (2013). DOI: 10.1002/chem.201300664. 査読有 .
 16. H. Fuwa, K. Mizunuma, M. Sasaki, T. Suzuki H. Kubo, Total synthesis and biological evaluation of (–)-exiguolide analogues: Importance of the macrocyclic backbone, *Org. Biomol. Chem.*, **11**, 3442–3450 (2013). DOI: 10.1039/C3OB40131F. 査読有 .
 17. K. Ishigai, H. Fuwa, K. Hashizume, R. Fukazawa, Y. Cho, M. Yotsu-Yamashita, M. Sasaki, Total synthesis and biological evaluation of (+)-gambieric acid A and its analogues, *Chem. Eur. J.*, **19**, 5276–5288 (2013). DOI: 10.1002/chem.201204303. 査読有 .
 18. H. Fuwa, N. Yamagata, A. Saito, M. Sasaki, Total synthesis of 13-demethyllyngbyalose B, *Org. Lett.*, **15**, 1630–1633 (2013). DOI: 10.1021/ol400408w. 査読有 .
- 〔学会発表〕(計39件)
1. 岩崎浩太郎、荒井啓介、佐々木誠、カリビアンシガトキシンの合成研究、日本薬学会第137年会、2017年3月26日、東北大学(宮城県仙台市)
 2. 櫻井敬祐、佐々木誠、不破春彦、エニグマゾールAの合成研究、日本化学会第97春季年会、2017年3月18日、慶應義塾大学(神奈川県横浜市)
 3. 坂本深太、佐々木誠、不破春彦、イリオモテオリド-2aの合成および構造研究、日本化学会第97春季年会、2017年3月18日、慶應義塾大学(神奈川県横浜市)
 4. 三好太郎、齋藤真輝、岩崎浩太郎、佐々木誠、ポルチミンの合成研究、日本化学会第97春季年会、2017年3月18日、慶應義塾大学(神奈川県横浜市)
 5. 齋藤真輝、三好太郎、岩崎浩太郎、佐々木誠、ポルチミンの合成研究、日本化学会第97春季年会、2017年3月18日、慶應義塾大学(神奈川県横浜市)
 6. 柳翔太、野口拓真、川上雅人、佐々木誠、不破春彦、丹羽伸介、杉本亜砂子、ネオペルトリド蛍光標識アナログの設計・合成・機能評価、日本ケミカルバイオロジー学会第11回年会、2016年6月15日、京都テルサ(京都府京都市)
 7. 柳翔太、野口拓真、川上雅人、佐々木誠、不破春彦、丹羽伸介、杉本亜砂子、ネオペルトリド蛍光標識アナログの合成と機

- 能評価、日本化学会第 96 春季年会、2016 年 3 月 25 日、同志社大学(京都府京都市)
8. 豊島惇、川島悠岐、不破春彦、佐々木誠、アンフィジノリド N の全合成研究、日本化学会第 96 春季年会、2016 年 3 月 24 日、同志社大学(京都府京都市)
 9. 坂本溪太、佐々木誠、不破春彦、イリオモテオリド-2a の全合成研究、日本化学会第 96 春季年会、2016 年 3 月 24 日、同志社大学(京都府京都市)
 10. K. Sakamoto, A. Hakamata, H. Fuwa, M. Sasaki, Synthetic studies on iriomoteolide-2a, 2015 International Congress of Pacific Basin Societies, 2015 年 12 月 17 日, Honolulu (USA)
 11. Y. Kawashima, H. Fuwa, M. Sasaki, Studies toward the total synthesis of amphidinolide N, 2015 International Congress of Pacific Basin Societies, 2015 年 12 月 17 日, Honolulu (USA)
 12. 奥秋佑太、山縣直哉、尾形有也、不破春彦、佐々木誠、リングピアロシド B の全合成と構造改訂、第 108 回有機合成シンポジウム、2015 年 11 月 6 日、早稲田大学国際会議場(東京都新宿区)
 13. 坂本溪太、袴田旺弘、不破春彦、佐々木誠、Total synthesis of the proposed structure of iriomoteolides-2a, 平成 27 年度化学系学協会東北大会、2015 年 9 月 13 日、弘前大学(青森県弘前市)
 14. 小野寺悠、不破春彦、佐々木誠、Synthesis of medium-sized cyclic ethers via diastereoselective ring-closing metathesis、平成 27 年度化学系学協会東北大会、2015 年 9 月 13 日、大学(青森県弘前市)
 15. 不破春彦、山縣直哉、奥秋佑太、尾形有也、齋藤麻美、佐々木誠、リングピアロシド B の全合成と完全立体構造決定、第 57 回天然有機化合物討論会、2015 年 9 月 10 日、神奈川県民ホール(神奈川県横浜市)
 16. 菅藤萌美、佐々木誠、海洋渦鞭毛藻由来の細胞増殖促進物質アンフィリオニン-5 の合成と構造解析研究、第 29 回海洋生物活性談話会、2015 年 5 月 9 日、下田臨海実験所(静岡県下田市)
 17. 奥秋佑太、不破春彦、佐々木誠、リングピアロシド B の全合成と構造改訂、日本化学会第 95 春季年会、2015 年 3 月 26 日、日本大学(千葉県船橋市)
 18. 佐藤みずほ、不破春彦、佐々木誠、ネオペルトリド類縁体の HL-60 細胞に対する作用解析、第 56 回天然有機化合物討論会、2014 年 10 月 15 日、高知県立県民文化ホール(高知県高知市)
 19. 袴田旺弘、不破春彦、佐々木誠、イリオモテオリド-2a の全合成研究、第 44 回複素環化学討論会、2014 年 9 月 11 日、札幌市民ホール(北海道札幌市)
 20. 佐藤みずほ、不破春彦、佐々木誠、ネオ

- ペルトリド類縁体の HL-60 細胞に対する作用解析研究、日本ケミカルバイオロジー学会第 9 回年会、2014 年 6 月 13 日、大阪大学会館(大阪府豊中市)
21. 佐藤みずほ、不破春彦、佐々木誠、ネオペルトリド類縁体の作用解析研究、日本化学会第 94 春季年会、2014 年 3 月 30 日、名古屋大学(愛知県名古屋市)
 22. 奥秋佑太、不破春彦、佐々木誠、リングピアロシド B の全合成研究、日本化学会第 94 春季年会、2014 年 3 月 29 日、名古屋大学(愛知県名古屋市)
 23. 袴田旺弘、不破春彦、佐々木誠、イリオモテオリド-2a の全合成研究、日本化学会第 94 春季年会、2014 年 3 月 29 日、名古屋大学(愛知県名古屋市)
 24. 川島悠岐、豊島惇、不破春彦、佐々木誠、アンフィジノリド N の全合成研究、日本化学会第 94 春季年会、2014 年 3 月 29 日、名古屋大学(愛知県名古屋市)
 25. 武藤崇史、関根久美子、不破春彦、佐々木誠、ディテムナケタール B の全合成と完全立体構造決定、第 55 回天然有機化合物討論会、2013 年 9 月 20 日、同志社大学寒梅館(京都府京都市)

〔図書〕(計 4 件)

1. 佐々木誠、丸善出版(国立天文台編) 理科年表 平成 29 年、2016 年、17 ページ
2. 佐々木誠、丸善出版(国立天文台編) 理科年表 平成 28 年、2015 年、17 ページ
3. 佐々木誠、丸善出版(国立天文台編) 理科年表 平成 27 年、2014 年、17 ページ
4. 佐々木誠、丸善出版(国立天文台編) 理科年表 平成 26 年、2013 年、17 ページ

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/kanshoku/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

佐々木 誠 (SASAKI, Makoto)
 東北大学・大学院生命科学研究科・教授
 研究者番号：80235267

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

不破 春彦 (FUWA, Haruhiko)
 東北大学・大学院生命科学研究科・准教授
 研究者番号：90359638

(4) 研究協力者

なし