

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 6 月 16 日現在

機関番号：72801  
研究種目：基盤研究(C) (一般)  
研究期間：2014～2016  
課題番号：26460168  
研究課題名(和文) 触媒的不斉合成とケミカルバイオロジーに立脚した抗超多剤耐性結核薬リードの創製  
  
研究課題名(英文) Development of anti-XDR-TB leads based on catalytic asymmetric synthesis and chemical biology  
  
研究代表者  
渡辺 匠 (WATANABE, Takumi)  
  
公益財団法人微生物化学研究会・微生物化学研究所・部長  
  
研究者番号：80270544  
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：研究開始前に達成したカプラゾールの触媒的不斉全合成，ならびに本研究開始初期に完成したカプラザマイシンの合成の知見を活用し，まずは天然由来のカプラザマイシンを原料とした半合成手法では入手困難な誘導体展開を行った．具体的には7員環ラクタム部の窒素上のアルキル基をメチル基からより長鎖のものに変更した化合物の合成に成功した．  
また，XDR-TBに抗菌活性を示すCPZEN-45の触媒的不斉合成を達成し，その途上でウリジン部位とラクタム部位を繋ぐβ-ヒドロキシアミノ酸構造の立体選択的構築に不斉linked-BINOLと亜鉛の複合体を用いた触媒的不斉反応系が利用可能であることを明らかにした．

研究成果の概要(英文)：Initially, caprazamycin derivatives which is not accessible by semi-synthetic strategy starting from naturally-occurring captazamycin were prepared based on the catalytic asymmetric synthetic route to caprazol and caprazamycin; caprazol derivatives with longer aliphatic side chain installed on one of the nitrogen atoms embedded in the seven-membered lactam core were successfully synthesized.  
Then, catalytic asymmetric synthesis of CPZEN-45 was accomplished. In the synthetic route, a complex comprising Zn and chiral linked-BINOL ligand was found to be effective for the aldol reaction to construct the beta-hydroxyamino acid substructure to show excellent diastereoselectivity.

研究分野：有機化学

キーワード：触媒的不斉合成 ケミカルバイオロジー XDR-TB 抗結核薬 構造活性相関

1. 研究開始当初の背景

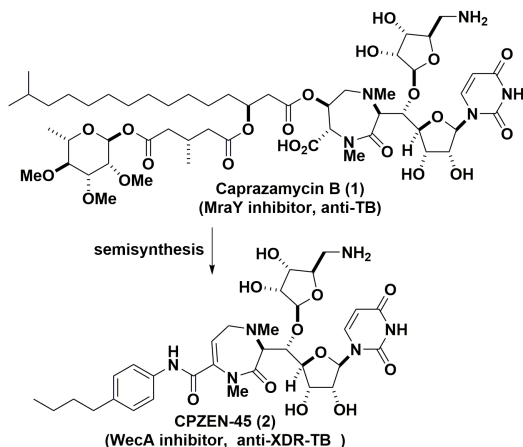


図1. カプラザマイシン B と CPZEN-45

結核は現在でも世界最大の感染症であり、近年では臨床使用される化学療法剤の多くに対して耐性を示す超多剤耐性結核菌 (XDR-TB) も確認されている。既知の XDR-TB 株のヒト間の感染力は弱い、有効な治療法が存在しない以上、強力な感染性を獲得すれば多くの罹患者の生命が危機に瀕する。そこで、新たな作用機序によって XDR-TB にも効果を示す抗結核薬の開発が望まれている。申請者の所属研究機関で発見された抗結核物質カプラザマイシン B<sup>1)</sup> (1, 図1) は、後に半合成的手法で XDR-TB にも有効な CPZEN-45 (2) に誘導体展開された<sup>2)</sup> (図1)。ごく最近、連携研究者の石崎はこの CPZEN-45 の抗結核活性は主にミコリルアラビノガラクトサン合成関連酵素 WecA の阻害によるものであり、ペプチドグリカン合成関連酵素 MraY の阻害剤であるカプラザマイシンとは作用が異なることを見出している<sup>3)</sup>。CPZEN-45 の狭い抗菌スペクトルと高い抗 XDR-TB 活性は創薬分子標的としての WecA の価値を高めている。その結果、WecA 阻害活性を指標としたカプラザマイシン関連化合物に関する高次の構造活性相関 (SAR) 研究に期待が集まるようになった。

2. 研究の目的

本研究は開始当初未達であったカプラザマイシン B の合成法確立をまず目指し、これを利用した SAR 研究を展開することを目的としている。SAR 研究においては WecA 阻害活性に必要な構造要件を確定すると共に、CPZEN-45 開発時に用いた半合成的手法では入手困難な誘導体を調製し、生物活性を検討することとした。具体的には 7 員環ラクタム部位の窒素上のメチル基をより長鎖のアルキル基へと伸長した化合物や立体異性体などが合成標的として適当と考えた。

また、CPZEN-45 のようなラクタム内部に二重結合を有する誘導体群の合成に備え、当該化合物の触媒的不斉全合成法を確立することとした。効率的合成が可能となれば、臨床開発に向け現在発酵法に依存している

CPZEN-45 の製造にも貢献しうるものと期待された。

3. 研究の方法

本研究の基盤技術となるカプラザマイシン関連化合物の合成には、研究代表者の所属研究室にて開発されてきた触媒的不斉反応を鍵工程に用いることを主眼に置いた。既にルートが完成し、今回の誘導体合成に利用しうるカプラゾールの全合成においては熊谷・柴崎らの開発した 1 価銅と二座キラルホスフィン配位子からなる触媒を用いたダイレクト型チオアミドアルドール反応<sup>4)</sup>、松永・柴崎により開発された二核ニッケル-キラルシッフ塩基錯体を利用した 3-置換グルタル酸無水物の触媒的不斉アルコリス<sup>5)</sup>、熊谷・柴崎らによるネオジム、ナトリウムとキラルアミド配位子の複合体を触媒として用いたアンチ選択的不斉ニトロアルドール反応<sup>6)</sup>が適用される。これらに加え、ウリジン部位と 7 員環ラクタム部位との接合部の β-ヒドロキシアミノ酸構造については既報のイソシアノ酢酸アルドール反応に代わりうる反応について、所属先で開発された方法論を中心に検討を加えることとした。

また、7 員環ラクタム内の窒素上にメチル基以外のアルキル基が導入された誘導体の合成は、還元的アミノ化におけるアルデヒド基質の変更、および一級アミノ基の還元的アミノ化により行うことが出来るものと考えた。

4. 研究成果

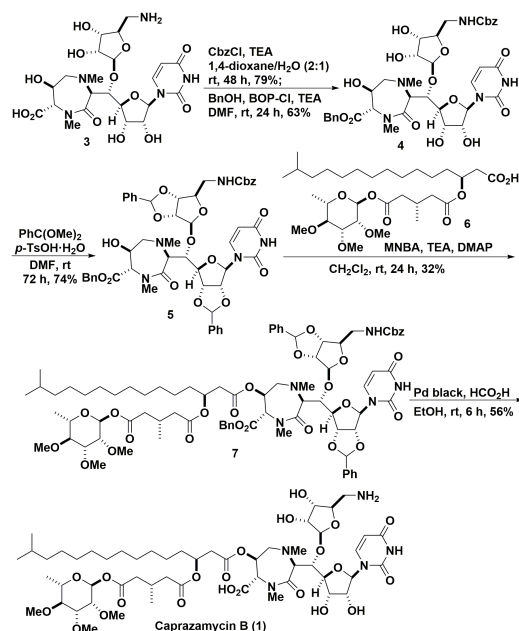


図2. カプラザマイシン B の全合成

既に触媒的不斉全合成を達成<sup>7)</sup>していたカプラゾール 3 を経て、そのアミノ基およびカルボキシル基を適切に保護した 4 へと導いた。続いてウリジンのリボース部位の 1,2-ジオー

ルをベンジリデンアセタール **5** に変換した後、触媒的不斉合成を既に報告している側鎖部位<sup>8)</sup>に相当するカルボン酸 **6** と椎名法で縮合し、カプラザマイシン B の全骨格を有する前駆体 **7** を得た。ここで **6** の合成におけるエステル化に多用された山口法、DCC 系など他のカップリング試剤を用いた縮合、一旦 **6** を酸クロリドに導いたのちにアシル化する方法などは  $\beta$ -アシロキキシ部位の脱離が生じやすく、目的物 **7** を与えることはなかった。最後に竹本らの報告<sup>9)</sup>に従いすべての保護基を除去することでカプラザマイシン B の合成に成功した (図 2)。

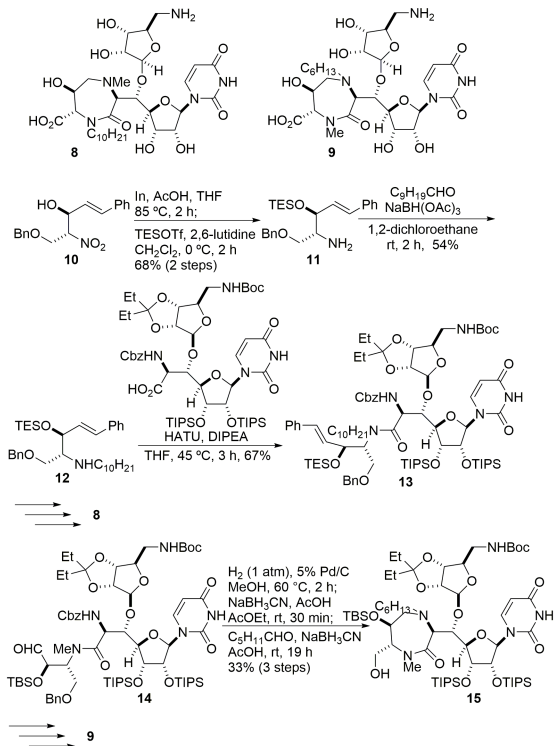


図 3. 新規カプラゾール誘導体

合成法の詳細は省略するが、図 3 に挙げた新規カプラゾール誘導体を合成した。ラクタム窒素上に長鎖アルキル基を導入した **8** は先述の触媒的不斉ニトロアルドール反応で立体選択的に導入されたニトロ基を還元の後 (**10** から **11**)、還元的アミノ化によりその窒素上のアルキル化を行うことで合成が可能となる (**12**)。また、環内三級アミンの長鎖アルキル体 **9** については還元的アミノ化反応を用いたカプラゾールのメチル基導入時に基質としたホルムアルデヒドを対応するアルデヒドに代えることで合成が行うことができた (**14** から **15**)。いずれも CPZEN-45 開発時の半合成的手法では入手がほぼ困難な誘導体であり、SAR 研究の適用範囲の拡大に大きく貢献する成果となった。生物活性等については他の誘導体も合成した後に測定の手配である。

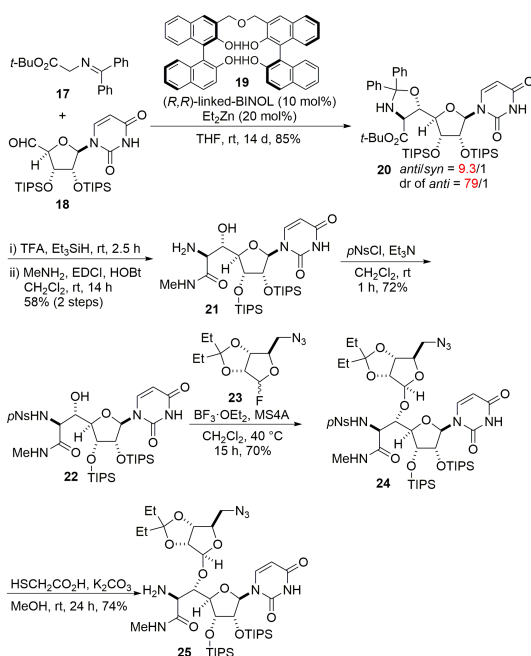


図 4. CPZEN-45 の触媒的不斉合成 (ジアゼピノ環構築前)

半合成的手法に依拠しない抗 XDR-TB 剤リード創製を目指した SAR 研究に利用可能なカプラザマイシン類縁体合成法の確立の一環として、CPZEN-45 の触媒的不斉合成を行った (図 4)。

まず、ウリジン部位と 7 員環ラクタム部位との連結にはカプラゾールの触媒的不斉合成と同様に含窒素エノラートを基質としたジアステレオ選択的アルドール型反応を利用することとした。カプラゾールの際にはイソシアノ酢酸アルドール反応が適用され、特にアルデヒド基質のリボースのジオールの保護基の高さが選択性発現に重要であった。今回も同じウリジン由来のアルデヒド **18** を用い、所属研究室において開発された触媒的不斉反応の条件を対象にスクリーニングを行ったところ、(R,R)-linked-BINOL と 2 価亜鉛の 1 : 2 複合体を触媒とし<sup>10)</sup>、グリシン由来のシッフ塩基 **17** を求核種前駆体としたアルドール反応が高い立体選択性にて進行することがわかった。生成物のオキサゾリジン **20** は 9.3 : 1 の anti 選択性、また anti 体のジアステレオ選択性は 79 : 1 で所望の立体異性体が優先した。なお、カプラゾール合成時のイソシアノ酢酸アルドール反応は 4 : 1 程度の anti 選択性であったことから、大幅な改善がみられたことになる。なお本反応では初めに syn 体が生成するものの、徐々に平衡が anti 体に傾く興味深い機構を経る。

続いて保護基の変換とアミド化を行い **21** 経由で **22** とした後、カプラゾールの合成時にも利用した市川・松田らの報告<sup>11)</sup>による **23** を供与体として用いるグリコシル化を行い **24** へと導いた。その後、一級アミノ基上の保護基を除去し **25** を得た。

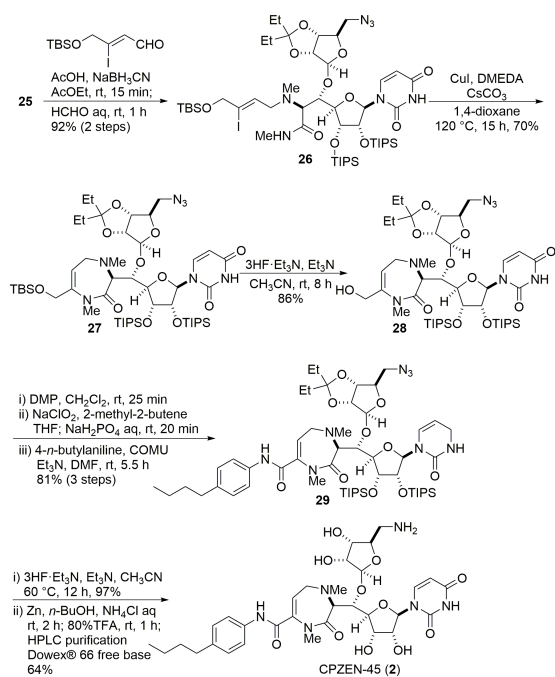


図5. CPZEN-45の触媒的不斉合成(ジアセピノン環構築後)

CPZEN-45のコア構造である環内に二重結合を有する7員環ラクタム(ジアセピノン環)については図5に示した1価銅をプロモーターとしたビニルハライド-アミドカップリングを用い構築することに成功した。その環化前駆体である26は25に対し適切なエネルギーをパートナーとした還元的アミノ化を行うことで調製が可能である。末端の一級水酸基のTBS保護体の代わりにあらかじめアニリン誘導体とのアミド構造を導入した基質においては、環化前駆体は問題なく合成可能であるものの、当該環化反応に用いられる程度の塩基でもβ脱離によるアルキンの生成を避けることができなかった。

本反応で良好な収率にて得られた環化体27に対し、 $3\text{HF}\cdot\text{Et}_3\text{N}$ を作用させると選択的に一級水酸基の脱保護のみが進行した。更に常法に従い2段階の酸化条件(Dess-Martin酸化およびPinnick酸化)に付すことで対応するカルボン酸へと変換された。これにCOMUを縮合剤としたカップリング反応を行い、CPZEN-45の全骨格を有する中間体29を合成した。最後に全保護基を除去することで目的とするCPZEN-45の触媒的不斉合成に成功した。合成品はイオン交換樹脂により塩形を整えることでCPZEN-45の標品と各種データが完全に一致した。今後はカプラザマイシン関連化合物の立体異性体等の合成を行い、SAR研究を継続する予定である。

#### 参考文献

- Igarashi, M. *et al.*, *J. Antibiot.*, **2003**, 56, 580.
- Takahashi, Y. *et al.*, *J. Antibiot.*, **2013**, 66, 171.
- Ishizaki, Y. *et al.*, *J. Biol. Chem.*, **2013**, 288,

30309.

- (a) Kumagai, N. and Shibasaki, M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 18244. (b) Kumagai, N. and Shibasaki, M. *et al.*, *Tetrahedron*, **2011**, 67, 6539.
- (a) Watanabe, T. and Shibasaki, M. *et al.*, *Org. Lett.*, **2012**, 14, 1358. (b) Matsunaga, S., Shibasaki, M. *Synthesis* **2013**, 45, 421.
- Kumagai, N. and Shibasaki, M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2009**, 131, 13860.
- Watanabe, T. and Shibasaki, M. *et al.*, *Org. Lett.*, **2014**, 16, 3364.
- Watanabe, T. and Shibasaki, M. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2012**, 77, 9260.
- Takemoto, Y. *et al.*, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2015**, 54, 3136.
- (a) Shibasaki, M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2001**, 123, 2466. (b) Shibasaki, M. *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, **2003**, 125, 2169.
- Ichikawa, S. and Matsuda, A. *et al.*, *J. Org. Chem.*, **2008**, 73, 569.
- Takemoto, Y. *et al.*, *Org. Lett.*, **2016**, 18, 2300.

#### 謝辞

CPZEN-45の触媒的不斉合成の実験一般に関する竹内倫文博士の貢献に深謝いたします。

#### 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3件)

- Watanabe, T. Synthesis of caprazamycins and related natural products. *Heterocycles* **2017**, 95, 662-693, 10.3987/REV-16-SR(S)5. (査読有)
- Takeuchi, T., Abe, H., Watanabe, T.; Shibasaki, M. Catalytic asymmetric synthesis of CPZEN-45. *Tetrahedron Lett.* **2016**, 57, 2901-2904, 10.1016/j.tetlet.2016.05.072. (査読有)
- Abe, H., Gopinath, P., Ravi, G., Wang, L., Watanabe, T., Shibasaki, M. Synthesis of caprazamycin B. *Tetrahedron Lett.* **2015**, 56, 3782-3785, 10.1016/j.tetlet.2015.04.065. (査読有)

[学会発表](計8件)

- 竹内倫文, 阿部 光, 渡辺 匠, 柴崎正勝, 抗超多剤耐性結核化合物CPZEN-45の触媒的不斉全合成, 第110回有機合成シンポジウム, 2016年11月10日, 早稲田大学国際会議場(東京都新宿区).
- Takumi Watanabe, Catalytic Asymmetric Synthesis of Biologically Active Natural Products, Stereochemistry 2016 (招待講演), 2016年8月18日, Hotel Grand Mercure Sao Paulo Ibirapuera (Sao Paulo,

- Brazil) .
3. 竹内倫文, 渡辺 匠, 柴崎正勝, 抗超多剤耐性結核化合物 CPZEN-45 の合成研究, 日本薬学会第 136 年会, 2016 年 3 月 29 日, パシフィコ横浜(神奈川県横浜市).
  4. Takumi Watanabe, Synthesis of Anti-TB and Anti-cancer Natural Products, International Conference on "Current Challenges in Drug Discovery Research" (招待講演), 2015 年 11 月 23 日, Malaviya National Institute of Technology (Jaipur, India) .
  5. Takumi Watanabe, Purushothaman Gopinath, Lu Wang, Hikaru Abe, Gandamala Ravi Takashi Masuda and Masakatsu Shibasaki, Catalytic Asymmetric Synthesis of Caprazamycin B and Caprazol, 6th International Symposium on Advances in Synthetic and Medicinal Chemistry, 2015 年 11 月 18 日, Weizmann Institute (Rehovot, Israel) .
  6. Gopinath Purushothaman, 阿部 光, Lu Wang, Ravi Gandamala, 舛田岳史, 渡辺 匠, 柴崎正勝, カプラザマイシン類の合成研究: (+)-カプラゾールの触媒的不斉全合成, 日本薬学会第 135 年会, 2015 年 3 月 27 日, デザイン・クリエイティブセンター神戸(兵庫県神戸市)
  7. 渡辺 匠, Gopinath Purushothaman, Lu Wang, 阿部 光, Ravi Gandamala, 舛田岳史, 柴崎正勝, カプラザマイシン類の合成研究: (+)-カプラゾールの触媒的不斉全合成, 第 56 回天然有機化合物討論会, 2014 年 10 月 16 日, 高知県立県民文化ホール(高知県高知市).
  8. Takumi Watanabe, Purushothaman Gopinath, Lu Wang, Hikaru Abe, Takashi Masuda, Gandamala Ravi and Masakatsu Shibasaki, Catalytic Asymmetric Total Synthesis of (+)-Caprazol, 5th EuCheMS Chemistry Congress, 2014 年 9 月 2 日, Wow Convention Center Istanbul (Istanbul, Turkey) .

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.bikaken.or.jp/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

渡辺 匠 (WATANABE, Takumi)

(公財)微生物化学研究会・微生物化学研

究所 有機合成研究部・部長

研究者番号: 80270544

### (2) 研究分担者

なし

### (3) 連携研究者

石崎 仁将 (ISHIZAKI, Yoshimasa)

(公財)微生物化学研究会・微生物化学研究所 第 2 生物活性研究部・主任研究員  
研究者番号: 10414103

梅沢 洋二 (UMEZAWA, Yoji)

(公財)微生物化学研究会・微生物化学研究所 分子構造解析部・部長  
研究者番号: 60160313

坂本 修一 (SAKAMOTO, Shuichi)

(公財)微生物化学研究会・微生物化学研究所 沼津支所・上級研究員  
研究者番号: 60346070

### (4) 研究協力者

ガンダマーラ ラヴィ (Ravi, Gandamala)

(公財)微生物化学研究会・微生物化学研究所 有機合成研究部・博士研究員

ルー ワン (Wang, Lu)

(公財)微生物化学研究会・微生物化学研究所 有機合成研究部・博士研究員