

北里微生物ライブラリーから見出された有用大環状天然物

Verticilide および Actinoallolide A の全合成研究

感染制御科学専攻 創薬科学履修コース 生物有機化学

DI-17005 渡邊 彰人

・疎水性タグを用いた殺虫活性天然物 Verticilide の全合成

【目的】

殺虫剤は食糧資源の増産や安定した供給に多大な貢献を果たしてきた。現在使用されている殺虫剤や抗蠕虫剤は多岐に渡りその効果を発揮してきたが、有効性や毒性などの面ですべて満足できるとはいい難く、新規薬剤開発が強く要望されている。Verticilide (1)は、北里研究所の大村らにより、筋収縮を制御するリアノジンレセプター(RyR)に対するリアノジン結合阻害物質の探索の結果、糸状菌の培養液中より発見された新規天然物である(Figure 1)¹⁾。1はワモンゴキブリ由来のRyRとリアノジンの結合をIC₅₀値4.2 μMで阻害し、哺乳類のRyRに対して約10倍の選択性を有する事から、人に無害な新規殺虫剤として期待される。今後1を殺虫剤として展開するにあたり、工業的生産に適応できるかつ簡便な1の合成法が不可欠である。当研究室で固相合成法による1の合成経路が確立されている²⁾。固相合成法は反応溶液を濾過のみで試薬を除去できるため、分液、精製が必要な液相合成法より簡便な手法である。しかし、固相表面で反応が進行するため過剰な試薬量を必要とし、大量合成への適応は難しい。そのため、効率性の高い合成経路を確立する必要がある。そこで、著者は疎水性タグを用いた新規合成経路の確立を目指した。

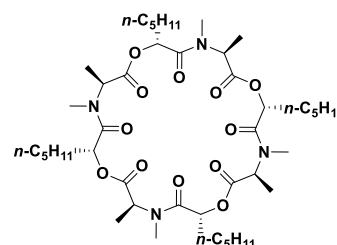


Figure 1. Verticilide (1)

【方法・結果】

疎水性タグ(HO-TAGa)(2)³⁾は長いアルキル鎖を有した脂溶性の高いベンジルアルコール系化合物であり、非極性溶媒に溶解し、極性溶媒中では結晶化を示す化合物である(Figure 2)。2を担持させた化合物は同様の性質を示すことから、精製の際に晶析させることで濾過のみで試薬を除くことができる(Figure 3)。加えて液相で反応を行うため、試薬を過剰量

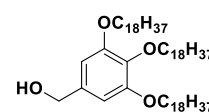


Figure 2. HO-TAGa (2)

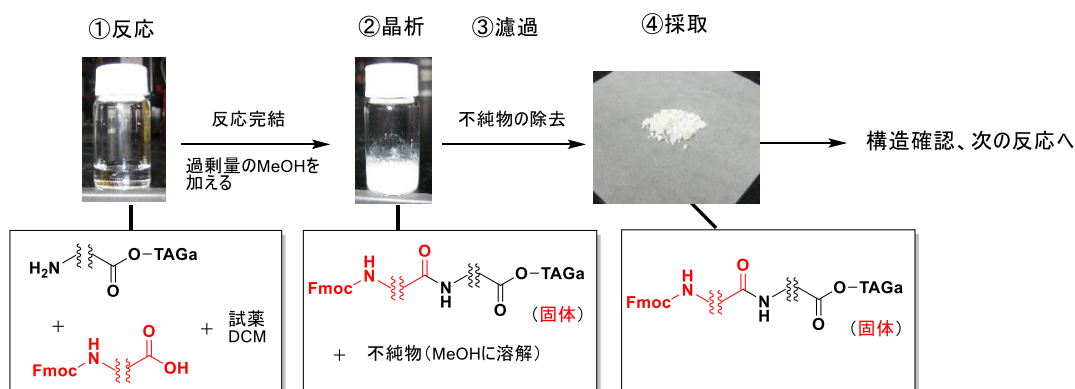
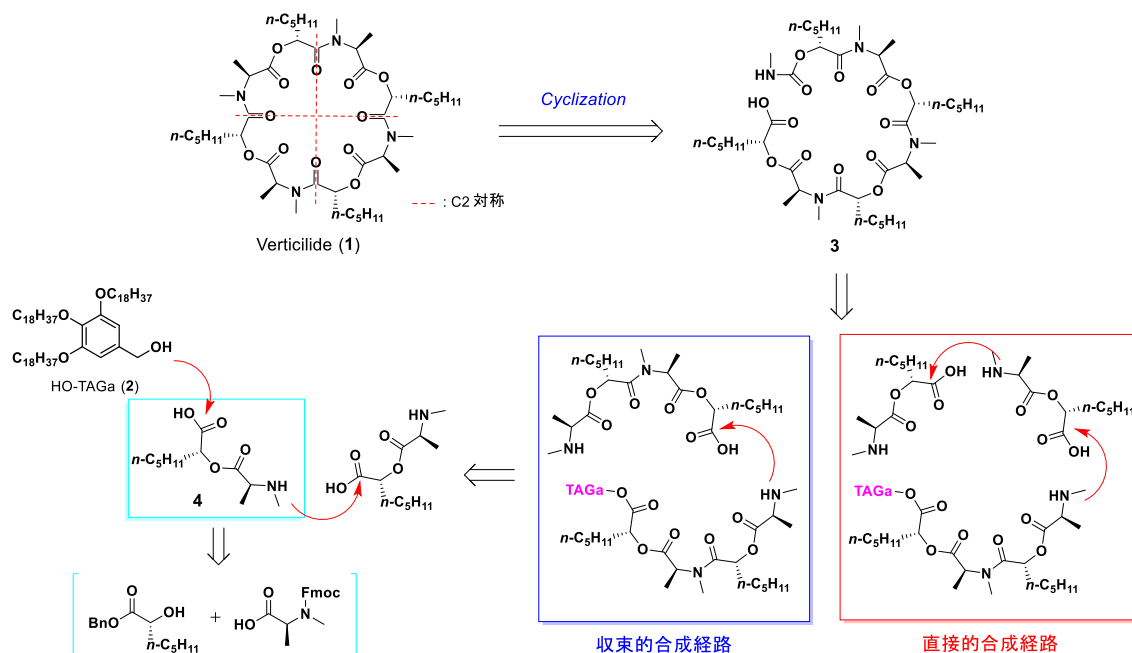


Figure 3. タグを用いた合成法

必要としない。この **2** の性質を利用した合成法は液相合成における効率性の良さ、固相合成の実験手順における簡便さの両方の性質を有している。そのため、既存の合成法に比べ効率性かつ簡便さに優れた **1** の合成経路を確立できると考えた。

実際に、当研究室では **2** を用いた環状ペプチドである Argifin や鎖状リポペプチドの Kozupeptin の効率的な全合成経路を確立しており、様々なペプチドの合成に応用でき、画期的な手法と言える。

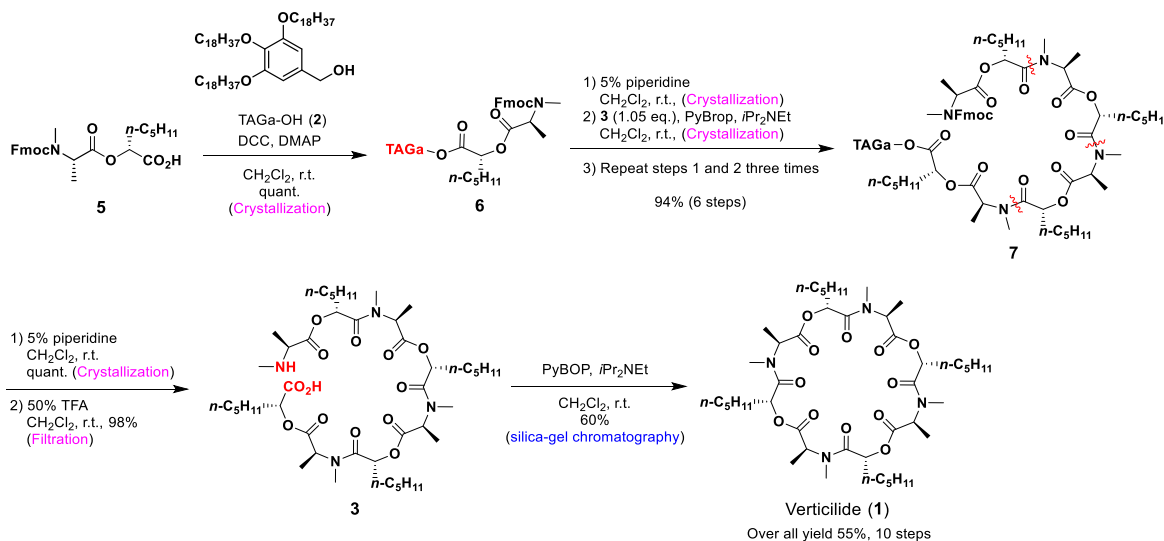
1 は(*R*)-ヒドロキシヘプタン酸と *N*-メチル-L-アラニンの2つのユニットが交互に縮合した環化構造を有する(Scheme 1)。2つのユニット間でエステル縮合した鍵中間体ユニット(**4**)を**2**に担持し、ユニット間で縮合していくことで、合成手順を大幅に簡略化し**1**を得られると考えた。また、本化合物の環状骨格は4つのユニットで構成され2つのC2対称面を有する。そのため、ユニットを一つずつ縮合していく直線的合成ルート、2つのユニットが結合した2ユニット体同士を縮合させる収束的合成ルートの2種類が考えられる。多様な誘導体の合成に適応できる経路を確立するため、下記の2つの合成ルートを試みた。



Scheme 1. Verticilide (1)の合成戦略

ここでは2つの合成経路のうち、直線的合成経路について説明する(Scheme 2)。本合成経路において、最後の環化を除くすべての工程はジクロロメタン中で溶解させ反応を行い、反応終了後、反応溶液中にメタノールを加え析出させ、懸濁液を濾過することで試薬を除去した。別途合成した鍵中間体(5)にHOTAGa(2)を担持させ、**6**を合成した。続いて、5% piperidineを用いたFmoc基の除去を行い、PyBroPを用いた**5**との縮合により、2ユニット体を合成した。同様の手法を用いて、順次ユニットの伸長を行い4ユニット体とし、タグを除去により環化前駆体(3)を得た。得られた**3**に対し、マクロラクタム化を行うことで、全10工程、総収率55%で目的とする**1**を合成し、全工程を通してシリカゲル精製は最終工程の1回のみで直線的合成ルートによる合成経路を確立した。また、記載を省略した収束

的合成ルートとともに、疎水性タグ HO-TAGa を用いた **1** の効率的な新規合成経路を確立した⁴⁾。今後、確立した合成経路の更なる効率化、および誘導体合成による構造活性相関研究を行うことで、**1** が農薬としての実用化に近づくことが出来ると期待する。



Scheme 2. Verticilide の直線的合成ルート

・抗トリパノソーマ活性を有する Actinoallolide 類の全合成研究

【目的】

アフリカトリパノソーマ症はツェツェバエにより媒介される原虫感染症であり、2016年の報告では、年間感染者数は約2500人、死者は1万8千人に及ぶ。既存薬には重篤な副作用が確認されており、新規薬剤の開発が望まれている。Actinoallolide 類は北里研究所においてフィジコケミカルスクリーニングの結果、放線菌 *Actinoallomurus fulvus* MK10-036 株培養液から単離された新規天然物である (Figure 3)⁵⁾。詳細な活性試験の結果、*in vitro*において強力な抗トリパノソーマ活性が認められ、加えて細胞毒性を示さないことから、新規アフリカトリパノソーマ症治療薬として期待が持たれた。そこで、高い抗トリパノソーマ活性及び高いヒト安全性を兼ね備えた新規治療薬創製を最終目的とし、Actinoallolide 類の合成研究を行う事とした。加えて、天然物の化学修飾によるアプローチから Actinoallolide A (**8**) よりすべての類縁体の誘導化が可能である事が分かっている。そのため、最も活性が強く、低細胞毒性を示す **8** を標的とした多様な類縁体合成が可能な全合成経路の確立に着手する事とした。

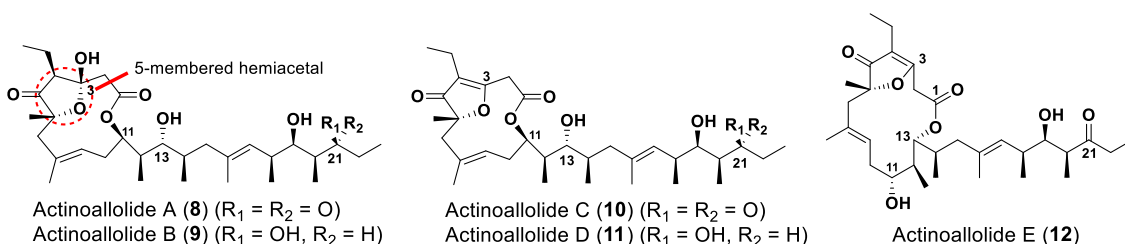
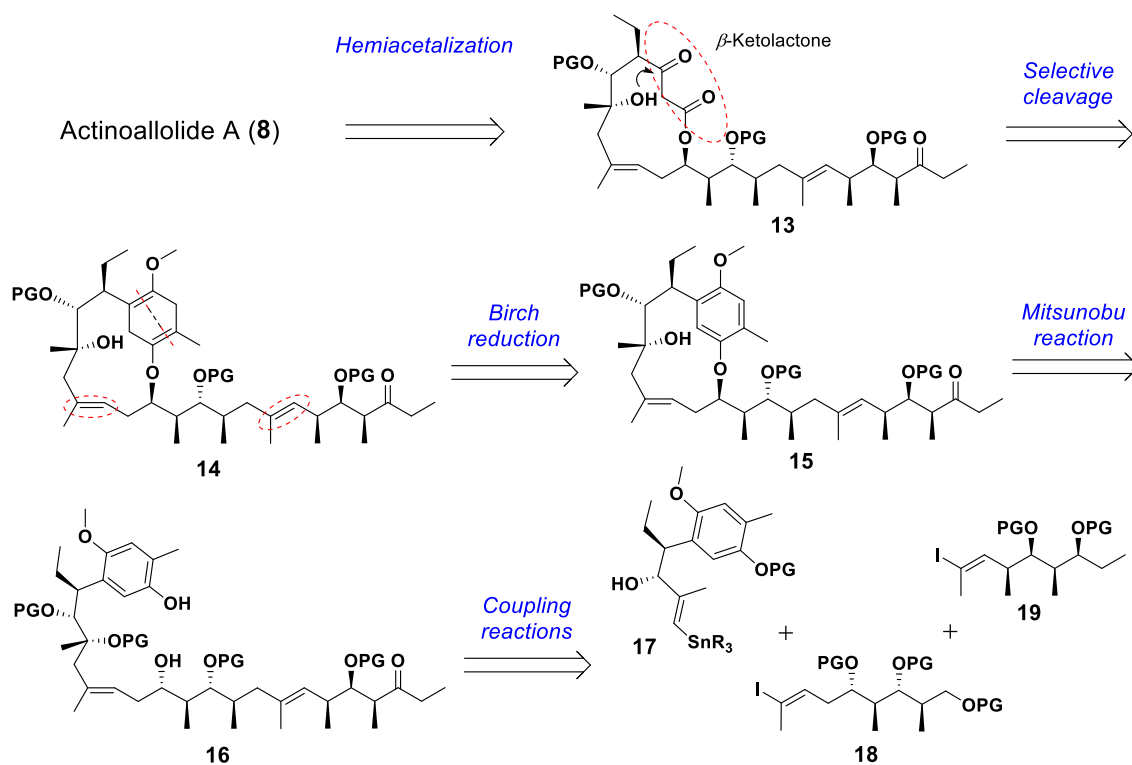


Figure 3. Actinoallolide 類の絶対立体構造

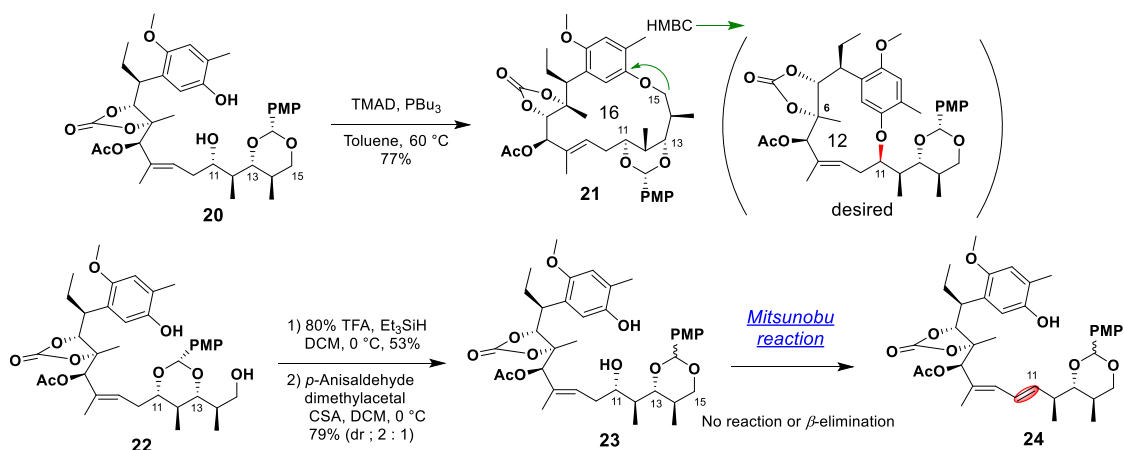
【方法・結果】

8 を合成するにあたり下記の逆合成戦略を立てた (**Scheme 3**)。まず、**8** の 5 員環ヘミアセタール及び β -ケトエステル(**13**)が種々の条件に不安定である事から、合成最終段階において合成する事とした。即ち、前駆体として安定な **15** からのバーチ還元により **14** とし、3 置換オレフィン存在下選択的酸化開裂より β -ケトエステル合成をする事とした。この際、予めベンゼン環上にメトキシ基を導入する事で、電子密度の差を利用した選択的な酸化開裂が行えると考えた。また、**8** を 3 つのパートに分割してそれぞれ **17, 18, 19** とし、順次連結させた後、光延マクロエーテル化により 12 員環を構築する戦略を立てた。本研究室において **17, 18, 19** の合成経路および各パートを連結させて、**8** のすべての炭素骨格を有する鎖状中間体の合成は完了し論文に報告している⁶⁾。



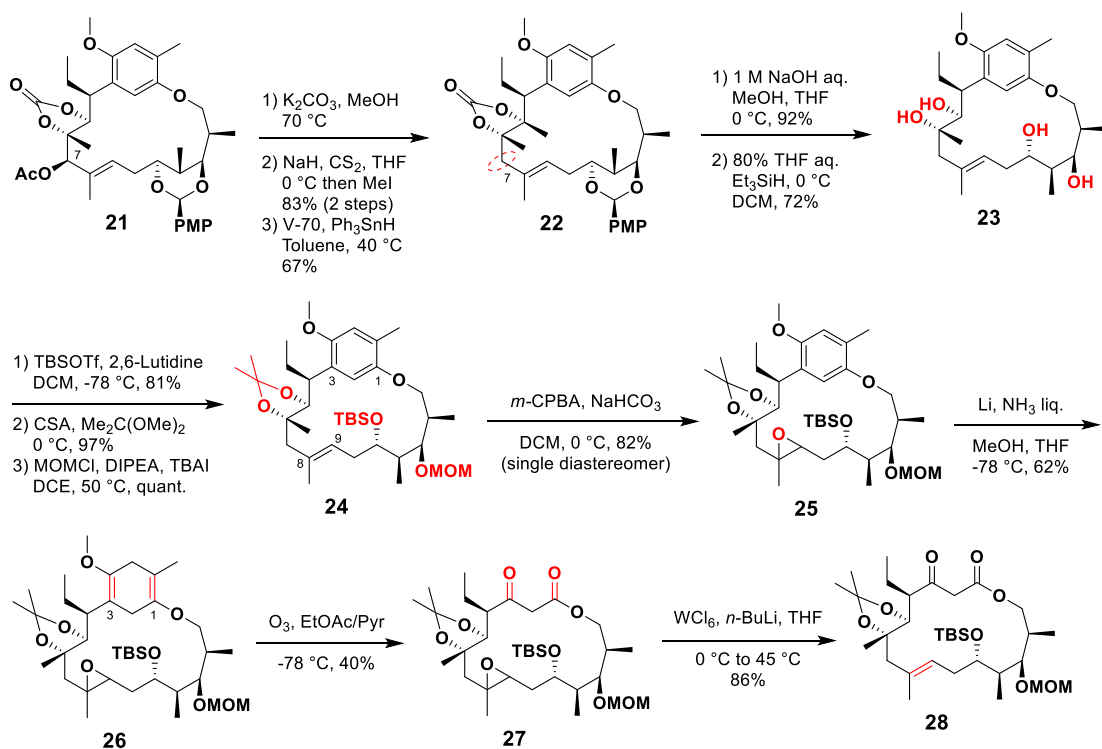
Scheme 3. Actinoallolide A (**8**)の逆合成解析

詳細は割愛するが、全炭素骨格を有する鎖状中間体において光延マクロエーテル化を行ったが、目的とする大環状フェノールエーテル得られず、 β -脱離体のみが得られた。長鎖を有する骨格から立体障害が大きく環化が進行しないと考察した。そこで、より炭素鎖の短い基質を用いて検討を行う事とした(**Scheme 4**)。この際、環化後、側鎖ユニットが導入可能な PMP アセタール体(**20**)を合成し、TMAD、 PBU_3 、加熱の条件に伏したところ環化体(**21**)を高収率で得る事が出来た。しかし、構造確認を行ったところ 12 員環ではなく 16 員環を形成している事が分かった。原因として、11 位の TBS 基の除去の際に、PMP アセタールの転位が起こり **22** が得られていた。そのため、16 員環での光延反応が進行してしまった。そこで所望の C-13、15 位が保護された **23** を合成し、光延反応を試みたが、反応が進行しないもしくは β -脱離体(**24**)が得られるのみであった。



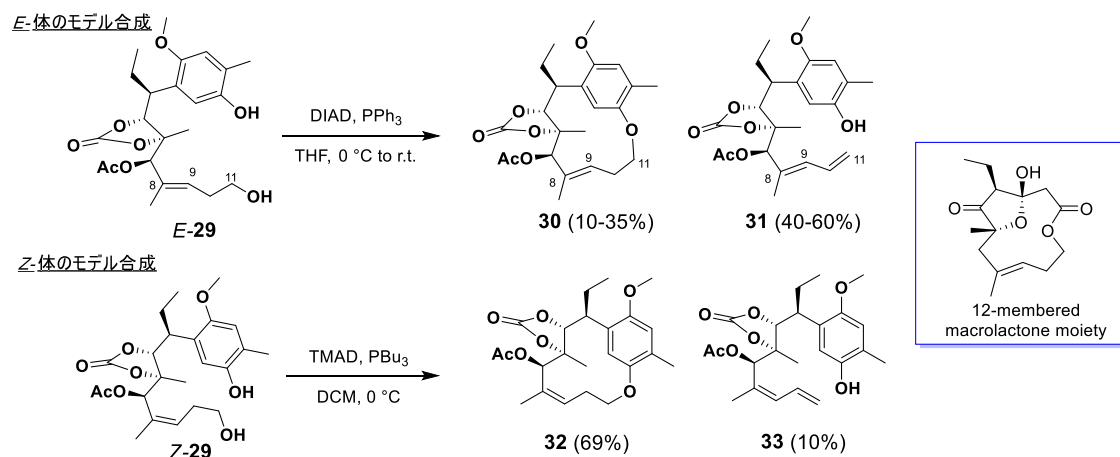
Scheme 4. PMP アセタール体(20)、23 による光延マクロエーテル化の検討

所望の 12 員環体は得る事が出来なかったが、より全合成に近い形での検討を行うため 21 を検討基質として用いた(Scheme 5)。まず、21 の 7 位水酸基の脱酸素化に続く保護基の除去によりテトラオール(23)とし、それぞれの水酸基に対し保護基の導入を行い 24 とした。続いて、24 に対してバーチ還元及びオゾン分解を試みたところ、バーチ還元によるエノールエーテルの構築は高収率にて得られた。しかし、オゾン分解において C-8,9 位の内部オレフィンとの選択性はなく C-8,9 が開裂した化合物が得られた。そのため、オレフィン等価体であるエポキシド体を用いる事とし、24 のエポキシ化に続くバーチ還元により 26 を得た後、下記に示す条件にて望みの β -ケトエステル(27)を得る事に成功した。最後に、オレフィンへの変換を行い、16 員環の β -ケトラクトン(28)を構築した。



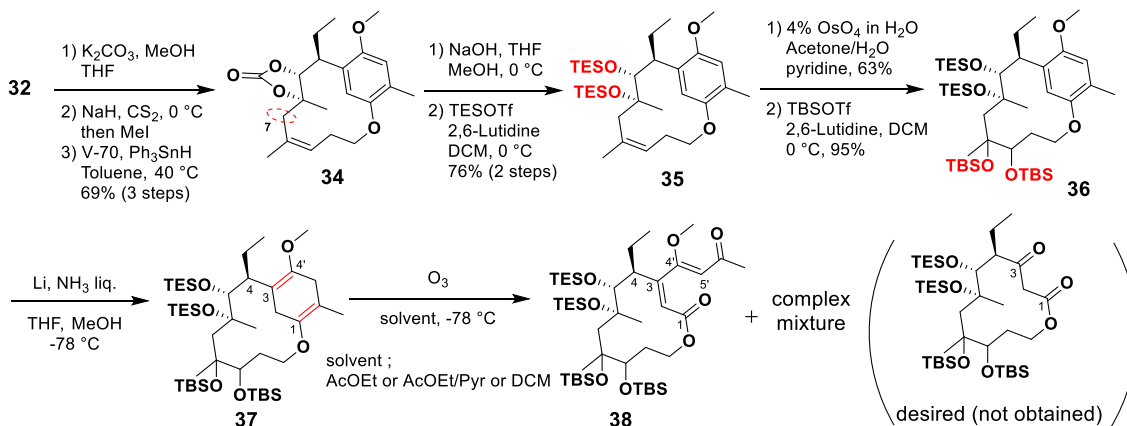
Scheme 5. 16 員環化合物による鍵反応の検討

先述の結果より、16員環 β -ケトラクトンの構築はできた。そこで直接的に12員環から β -ケトラクトンを構築するため、側鎖部位を持たずマクロラクトン部位のみを有する簡便なモデルで鍵反応の検討を行う事とした(Scheme 6)。この際、3置換オレフィンの幾何も考慮し *E*体、*Z*体それぞれの合成を行い光延マクロエーテル化の検討を行った。調製した(*E*-29)、(*Z*-29)を用いた光延マクロエーテル化を行い、検討の結果 *E*-29 では、THF の系において35%で30を得たが、再現性に乏しく平均収率は10%程度であった。そこで *Z*-29 を用いたところ TMAD, PBU₃, DCM の系において39を69%と高収率で得る事が出来た。



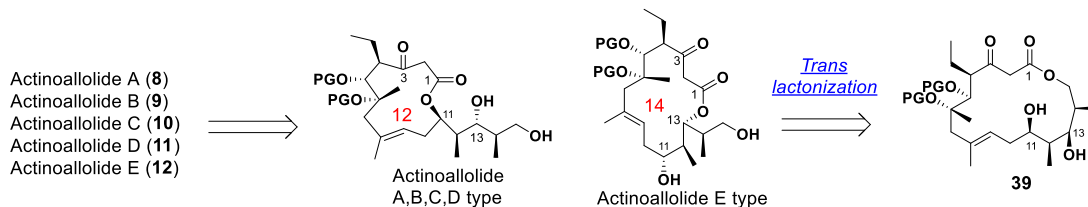
Scheme 6. モデル環化前駆体(*E*-29)および(*Z*-29)の合成と光延マクロエーテル化の検討

続いて、7位水酸基の脱酸素化に続く、環状カーボネート部位の保護基の脱着により35を合成した(Scheme 7)。その後、*E*-オレフィンへの異性化の足掛かりとして、オレフィン部位のジオール化に続くTBS基の保護により36とした。次にバーチ還元を行い37へと導いた後、酸化開裂を行ったところ38及び38由来の分解物が得られた。本基質のオゾン分解による酸化開裂では、1位の開裂は起こるものの、3位の酸化開裂は進行しない結果となった。原因として、4位エチル基の立体障害により反応性が低下し、次第に安定な4'、5'位へのオレフィンの異性化が起こってしまう事が考えられる。16員環の際には、オレフィンの異性化が起こっていない事から、12員環の歪みによる影響が大きいと考察した。そのため、本合成経路での直接的な12員環 β -ケトラクトンの構築は困難である事が示唆された。

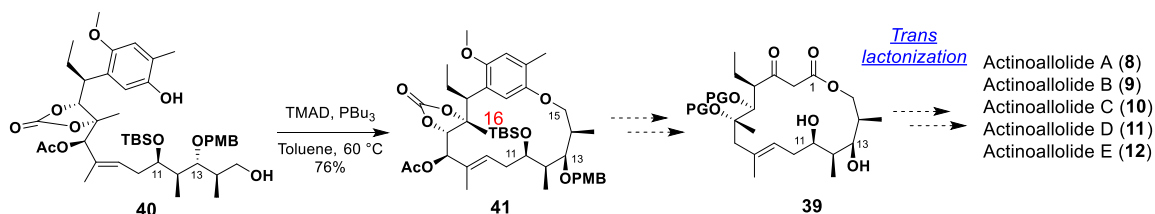


Scheme 7. β -ケトラクトンの構築検討

ここで、16員環マクロエーテルの合成及び16員環 β -ケトエステルの構築は可能なことが分かった。そこで、新たな戦略としてC-11水酸基の立体を天然物型で合成し、マクロエーテル化に続く β -ケトラクトンの構築、トランスラクトン化により、14員環および12員環に環縮小を行うことで、Actinoallolide類の合成が出来る考えた(Scheme 8)。実際に、C-11位の水酸基を天然型にした40を合成し、光延マクロエーテル化を行い環化体(41)までの合成は達成している(Scheme 9)。今後、今回確立した β -ケトエステルの条件を適応させる事で、Actinoallolide類の全合成が達成される事を期待する。



Scheme 8. 新たな合成戦略



Scheme 9. 天然型16員環の構築および今後の展望

【結論】

疎水性タグ HO-TAGa を用いた1の直接的合成ルート、収束的合成ルートの2つの効率のかつ実践的な新規合成経路を確立した。

8の全合成研究では12員環の β -ケトラクトンの構築は出来なかったものの、16員環マクロエーテルの合成及び16員環 β -ケトエステルの構築を達成した。

【参考文献】

- 1) Shiomi, K., *et al.*, *J. Antibiot.*, **2010**, *63*, 77.
- 2) Monma, S., *et al.*, *Org. Lett.*, **2006**, *8*, 5601.
- 3) Tamiaki, H., *et al.*, *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, **2001**, *74*, 733.
- 4) Watanabe, A., *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, *in press*
<https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2020.151699>
- 5) Inahashi, Y. *et al.*, *Org. Lett.*, **2015**, *17*, 864-867.
- 6) Oshita J., Watanabe, A., *et al.*, *Tetrahedron Lett.*, **2015**, *57*, 357-360.