

複雑な生物活性天然有機化合物の実践的合成研究

Practical Synthetic Studies on Biologically Active Complex Natural Products

(日本化学会推薦)

代表研究者 徳島大学 難波康祐 Tokushima University Kosuke Namba

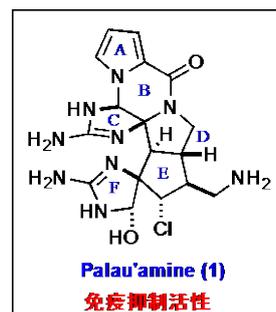
Palau'amine (**1**) has received a great deal of attention in the past two decades as an attractive synthetic target by virtue of its intriguing molecular architecture and significant immunosuppressive activity. Herein, we report the total synthesis of **1** characterized by the construction of an ABDE tetracyclic ring core including a trans-bicyclo[3.3.0]octane skeleton at a middle stage of total synthesis and the Hg(OTf)₂-catalyzed construction of quaternary carbon center corresponding to the C16 position. The ABDE tetracyclic ring core **14** was constructed by a cascade reaction of a cleavage of the N-N bond, including simultaneous oxidation to imine, the addition of amide anion to the resulting imine, and the condensation of pyrrole with methyl ester in a single step. After the construction of C- and F-ring systems, the functional groups transformation into **1** were accomplished by a sequential operation of chlorination of secondary hydroxyl group, a guanidine formation at C-ring, and the azidation reaction of primary alcohol. Finally, hydrogenation of **19** removed the *o*-nitrobenzyl group and Cbz group to afford palau'amine (**1**) (total 45 steps, 0.039% overall yield). The synthetic palau'amine is confirmed to exhibit excellent immunosuppressive activity.

研究目的

天然由来の有機化合物（天然物）には、医薬・農薬の候補として期待される強力な多様な生物活性を示す化合物が数多く知られている。しかしながら、それらの殆どは微量成分であるため、医薬品としての実用化はもとより、生物活性の精査に必要な最低量の供給さえ覚束ない現状がある。すなわち、優れた薬理活性を示すことが分かっているながらも、量的供給の問題によって実用化が困難な天然物が数多く存在している。そこで、微量天然物を化学的手法によって合成することが、微量天然物を医薬品として供給する手段の一つとして期待されている。しかしながら、合成標的とする天然物が複雑な炭素骨格と多様な官能基を併せ持つ場合、その合成は通常困難を極める。複雑な天然物を化学合成するためには、様々な化学変換反応を組み合わせた「多段階合成」が必要となるが、既存の化学反応の組み合わせのみでは、そのような複雑な天然物には到達できないこ

とが殆どである。そこで我々は、複雑天然物の化学合成を可能にする真に効率的な新規分子変換法の開発を行い、その新規反応を基軸とした複雑天然物の合成研究に取り組んできた。最近、最も合成が困難な天然物として知られた palau'amine の全合成を達成したので報告する。

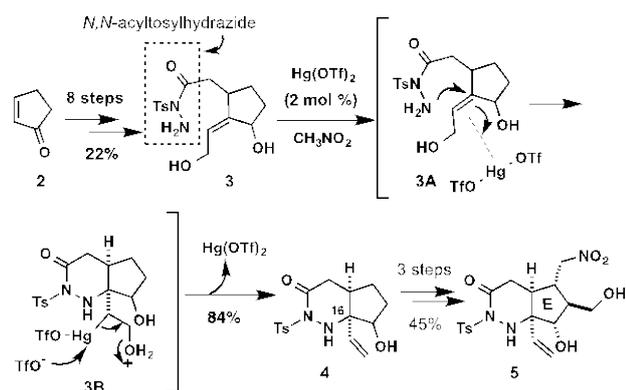
ピロール・イミダゾールアルカロイド類は、特異な構造と多様な強力な生物活性から、創薬シード化合物として高い関心を集めている化合物群である。その中でも、palau'amine (**1**) は非常に優れた免疫抑制活性を示し、その IC₅₀ 値は 0.24 nM 以下 (< 1.8 ng/mL) であることが報告されている。¹⁾ これは、現在知られている免疫抑制化合物の中でも最も強い活性を有する化合物の一つである。このため、**1** は医療分野への応用が強く



期待されているものの、その極めて複雑な化学構造ゆえに、実用化はもとより機能解明に必要な最低量の供給も覚束ない現状があった。一方、その複雑かつ興味深い化学構造から、世界中の著名な合成化学者が **1** の全合成研究に取り組んで来た。ハワイ大学の Scheuer らによって 1993 年に単離されて以降、50 報を超える **1** の合成研究が報告されてきたが、2010 年に Baran らが初の全合成を達成²⁾するまでの約 20 年間、最も合成が困難な化合物として知られていた。また、Baran らによって初の全合成が達成されたものの、プローブ化などの検討は行われていなかった。そこで我々は、**1** の免疫抑制機構解明に向けたプローブ化や構造活性相関研究に必要な誘導體化を視野に入れた新たな全合成経路の開発に着手した。

研究経過

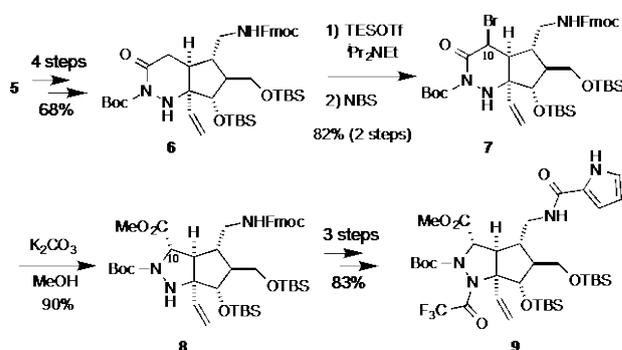
始めに、palau'amine の E 環部位の構築を行った。シクロペンテノン **2** を出発原料とし、8 工程で *N,N*-アシルトシルヒドラジド **3** へと変換した。得られた **3** を 2 mol % の水銀トリフラートで処理したところ、望む環化体 **4** が高収率で得られた。これは、3A からの分子内ヒドラジドマーキュレーションによって生成した **3B** の一級水酸基がプロトン化を受け、続く脱水銀過程によって、**4** を生成すると共に水銀トリフラートを再生するというものである。本法により、C16 位の含窒素 4 置換炭素の構築に成功した。続く 3 工程で側鎖を導入し palau'amine の E 環部位を構築した (Scheme 1)。³⁾



Scheme 1. Synthesis of E-ring core **5**.

E 環 **5** の合成に成功したことから、次に酸化段階の調整と palau'amine に相当する官能基導入を行った。**5** のニトロ基の還元と保護基の導入を行い **6** とした。C10 位の酸化は困難であったが、臭素化によって **7** を収率良く得ることに成功した。**7** をメタノ

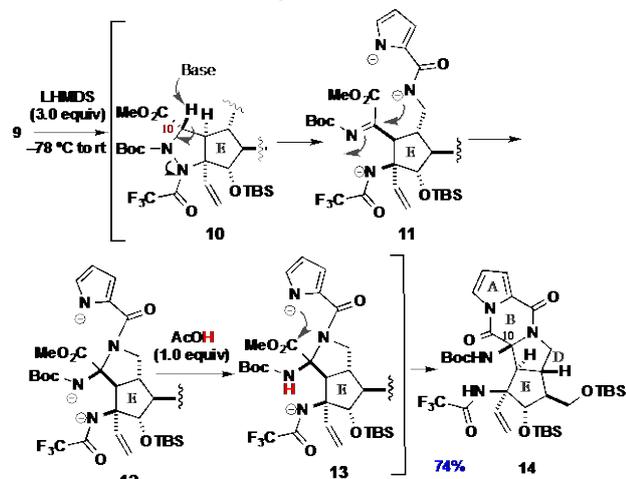
ール中炭酸カリウムで処理すると、メタノリシスによって生じたアミドアニオンの分子内 S_N2 反応によって **8** を得た。**8** のヒドラジド基に電子求引基としてトリフルオロアセチル基の導入と、一級アミノ基にピロールカルボン酸部位の導入を行い、D/E 環構築前駆体 **9** へと導いた (Scheme 2)。



Scheme 2. Synthesis of precursor **9** for cascade reaction.

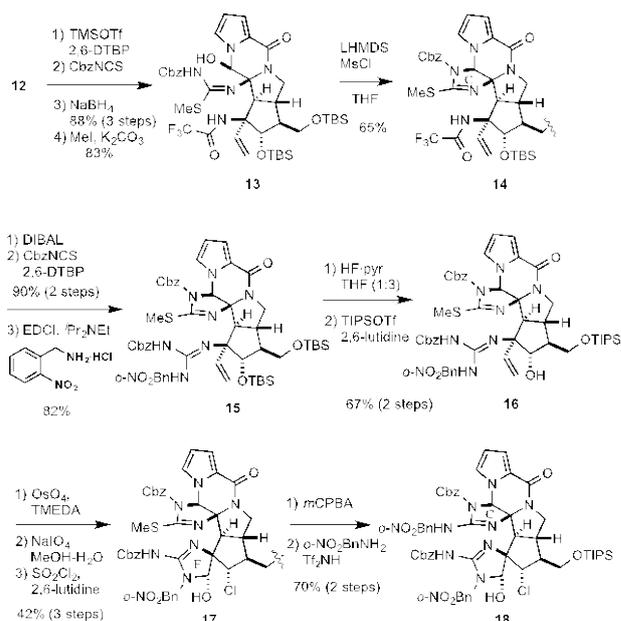
次に鍵反応となる ABDE 環の一段階構築を行った。**9** を LHMDS で処理したところ、N-N 結合の開裂によるアシルイミン **11** の生成に続いてアミドアニオンの付加、ピロールとの縮合反応が連続的に進行し ABDE 環を有する **14** が一段階で得られた。これにより、palau'amine の全合成における最大の課題であったトランスビシクロ[3.3.0]オクタン骨格 (D/E 環) の構築に成功した (Scheme 3)。本反応では、N-N 結合の開裂に続くアミドアニオンの付加による **12** の生成は即座に進行するものの、続くピロールアニオンの付加は極めて遅く低収率の原因となっていた。そこで、TLC によって **12** の生成を確認した後、一当量の酢酸を加えることでこの問題を解決した。すなわち **12** の生成後、3つのアニオンのうち最も塩基性の高い Boc アミドのアニオンをプロトン化しておく。これによって、ピロールアニオンの付加によって生じたメトキシドが、アミドカルボニル基へ再度付加することなく、アミドの活性プロトンを引き抜き消費されるというものである。また、5員環と5員環がトランスに縮環した D/E 環の形成は通常では困難と考えられるが、本反応では極めて円滑に 5,5-トランス縮環が構築できた。この要因として、リチウムイオンの関与が示唆されたことから、DFT 計算を用いてリチウムイオンのキレーション効果を調査した。その結果、メチルエステル部位のカルボニル酸素とアミドアニオンの間のリチウムイオンのキレーションによって、中間体 **5** が 8員環キレート構造を取っていることが示唆された。これにより、アミド窒素

とアシルイミン部位 (C10 位) が極めて近接した渡環部位に存在するため、環化反応が円滑に進行したことが明らかとなった。



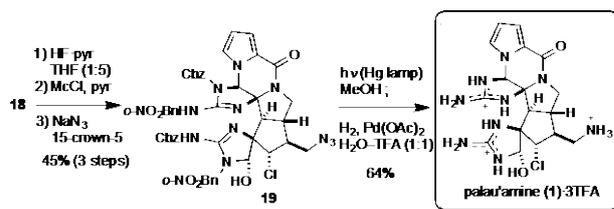
Scheme 3. Single step construction of ABDE ring system.

以上のようにして、palau'amine の基本骨格となる ABDE 環の構築に成功したことから、**12** からの全合成の達成を試みた。**12** の Boc 基を除去した後、生じた一級アミンに CbzNCS を作用させてチオウレアとした後、ピロールアミド部位の還元、チオイソウレアへの変換を経て **13** とした。この段階で結晶化が可能となったことから、X 線結晶構造解析によって **13** の構造を確認した。ついで、**13** に強塩基存在下で MsCl を作用させると、アミナル水酸基の脱離とイソチオウレア窒素の付加が連続して起こり、C 環に対応する環状イソチオウレア **14** が得られた。続いて、DIBAL によるトリフルオロアセチル基の除去、チオウレア形成、ニトロベンジルアミンの導入によって、F 環グアニジノ基を構築し **15** とした。**15** のオレフィン部の酸化的開裂は困難であったため、隣接する 2 級 TBS 基を先に除去することにした。2 つの TBS 基の除去、1 級水酸基の選択的な TIPS 保護によって **16** を得た。**16** のオスミウム酸化は円滑に進行し目的のジオール体を容易に与え、続く過ヨウ素酸開裂は水とメタノールの混合溶媒を用いた時のみ目的とする酸化開裂体を与えた。これにより、F 環の構築に成功した。続く 2 級水酸基の塩素化は F 環の隣接基関与により立体保持で進行し塩素体 **17** を与えた。次いで、C 環上のメチルチオ基をアミノ基へと変換する検討を行った。種々検討した結果、スルホキニドを経由する独自に見出した酸性条件でのグアニジノ化反応にて C 環を変換し **18** を得た (Scheme 4)。



Scheme 4. Synthesis of protected palau'amine

次に、一級水酸基のアジド化を検討した。一級水酸基にメシル基を導入し、加温条件下アジド化を行ったところ、一級水酸基のみならず二級塩素もアジド化されることが分かった。そこで脱離基を種々検討したところ、モノクラートをを用いることでアジド化が室温で進行し 1 級水酸基選択的にアジド基を導入することができた。これにより、palau'amine の保護体 **19** を得ることに成功した。最後に、照射によりニトロベンジル基を除去した後、水素添加によって Cbz 基の除去とアジド基の還元を行い palau'amine の全合成を達成した (Scheme 5)。⁴⁾ シクロペンテン **2** から 45 工程、総収率 0.039% の全合成であった。



Scheme 5. Total synthesis of palau'amine

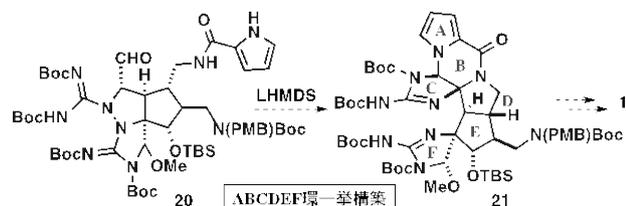
全合成によって得られた palau'amine (**1**) の免疫抑制活性試験を行ったところ、免疫抑制剤シクロスポリンと同等の顕著な免疫抑制活性を示すことが確認できた。これは、生物が生産したのと同じ機能を持つ物質が、試験官とフラスコの中で人工的に合成できたことを示している。一方、パラウアミンの保護体 **19** は免疫抑制活性を全く示さなかったことから、活性の発現にはそれぞれの極性官能基が必要で

あることも明らかにした。

考察

Palau'amine は希少な海洋生物から微量しか得られない化合物であり、医薬品としての開発研究には化学合成によるアプローチが不可欠である。また、免疫抑制作用の詳細なメカニズムは未だ不明とされており、その解明研究にはパラウアミンと部分的に化学構造が異なる類縁体の供給が必要となる。本研究成果は、世界で2例目となる化学合成であるが、パラウアミンと類縁体の双方を合成する新手法を提供するものであり、薬理学・医学研究への道を拓く重要な成果といえる。

以上のように、基本骨格の構築を先に行う本全合成法の確立によって、palau'amine の類縁体やプローブ体の供給が可能となった。しかしながら、本全合成は 45 工程と多くの工程数を要するため、実際に palau'amine の類縁体やプローブ体を必要な量だけ供給するためには、更なる工程数の短縮化が求められる。そこで、今回の palau'amine の全合成経路を基に、大幅な工程数削減を目指した第二世代全合成研究に現在取り組んでいる。すなわち、合成に到達することのみを目的とするのではなく、合成の先にある生命科学研究とのタイアップを果たすべく、必要十分量の **1** やその類縁体を供給するための実践的な合成研究へと展開している。具体的には、先の ABDE 環 (4 環) 一挙構築反応を ABCDEF 環 (6 環) 一挙構築反応へと展開する。先の全合成において、C 環と F 環の構築に多くの工程数を要していた。そこで、C 環と F 環を予め導入した基質で先の鍵反応を行えば、palau'amine の全ての環構造が一度に構築できることになる (Scheme 6)。現在、環化前駆体 **20** の短工程での構築法を検討中である。



Scheme 6. Single step construction of ABCDEF ring system

複雑な微量生物活性天然物の詳細な機能解明や医薬・農薬としての実用化には困難な課題が山積しているが、全合成の達成はそういった数多くの問題を解決するための第一歩となると考えている。生命科

学領域とのタイアップを果たすための実践的な合成研究を展開するためには、まずは合成に到達することが重要である。その上で、量的供給を指向した実践的な合成研究へと展開することにより、生命科学領域研究への貢献が果たせるものと考えている。

参考文献

- 1) (a) Kinnel, R. B., Gehrken, H.-P., Scheuer, P. J. *J. Am. Chem. Soc.* **115**, 3376-3377 (1993). (b) Kinnel, R. B., Gehrken, H.-P., Swali, R., Skoropowski, G., Scheuer, P. J. *J. Org. Chem.* **63**, 3281-3286 (1998).
- 2) (a) Seiple, I. B., Su, S., Young, I. S., Lewis, C. A., Yamaguchi, J., Baran, P. S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **49**, 1095-1098 (2010). (b) Seiple, I. B. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **133**, 14710-14726 (2011).
- 3) Namba, K. *et al. Chem. Eur. J.* **15**, 6560-6563 (2009).
- 4) Namba, K. *et al. Nat. Commun.* **6**, 8731 (2015).

研究の発表

(招待講演)

1. 「Palau'amine の全合成」、日本薬学会第 136 年会、シンポジウム「天然物ケミカルバイオロジー」、2016 年 3 月 29 日、パシフィコ横浜
2. 「化学合成の限界に挑むものづくり：palau'amine の全合成」、日本化学会第 96 春季年会 特別企画「有機合成化学を起点とするものづくり戦略」、2016 年 3 月 24 日、同志社大学
3. 「Palau'amine の全合成」、有機合成化学協会東海支部 総合講演会、2015 年 12 月 12 日、名古屋大学
4. 「有機合成を基盤とした新規機能性分子の合成研究」、徳島大学大学院医歯薬学研究部 第 12 回 公開シンポジウム、2015 年 11 月 5 日、徳島大学
5. 「Palau'amine の全合成～なぜ複雑な天然物を作るのか?～」、プロセス化学東四国フォーラムセミナー、2015 年 10 月 3 日、徳島文理大学
6. 「生物活性天然物の実践的合成研究」、愛媛大学大学院特別講演会、2015 年 9 月 28 日、愛媛大学 (松山市)
7. 「Palau'amine の全合成」、アスピオファーマ株式会社講演会、2015 年 7 月 6 日

8. 「イネ科植物の鉄イオン取り込み機構に関する有機化学的研究」、難波康祐 日本農芸化学会 2015 年度大会、2015 年 3 月 29 日、岡山大学
 9. 「Organic Chemistry Research on Iron Acquisition in Gramineous Plants」, Osaka City University International Conference, 2015 年 3 月 9 日、大阪市立大学理学部
 10. 「機能解明および実用化を指向した天然有機化合物の実践的合成研究」、慶応義塾大学理工学部 講演会、2014 年 12 月、慶應義塾大学理工学部
 11. 「機能解明や実用化を指向した微量天然有機化合物の実践的合成研究」、関西学院大学理工学部 講演会、2014 年 11 月、関西学院大学理工学部
 12. 「ムギネ酸およびパラウアミンの合成研究～有機合成の実力向上を目指して～」有機合成化学協会中四国支部第 71 回パネル討論会：天然物合成を通してみる「有機合成の実力」、2014 年 11 月 21 日、愛媛大学工学部
 13. 「複雑な天然有機化合物の実践的合成研究」、熊本大学大学院特別講義、2014 年 11 月 18 日、熊本大学理学部
 14. 「Organic Chemistry Research on Iron Acquisition in Gramineous Plants」, *The 3rd International Symposium on Chemical Biology of Natural Products*, 2014.10.28. Life Science Center (Osaka), Japan
 15. 「生物活性天然物の機能解明を指向した実践的合成研究」、武田薬品工業 CMC 研究センター、2014 年 9 月 16 日、武田薬品工業
 16. 「Organic Chemistry Research on Iron Acquisition in Gramineous Plants」 *Asubio Pharmaceuticals, Inc.*, 2014 年 9 月 1 日、アスピオファーマ
 17. 「生物活性天然有機化合物の機能解明及び実用化を指向した実践的合成研究」、住友化学株式会社 健康・農業関連事業研究所、2014 年 6 月 13 日、住友化学
 18. 「イネ科植物の鉄イオン取り込み機構に関する有機化学的研究」、理研シンポジウム-有機合成化学を起点とするものづくり戦略、2014 年 6 月 9 日、理化学研究所
 19. 「実践的合成研究を基盤とした新規土壌改良素材をよび蛍光素材の開発」、新規素材探索研究会 第 13 回セミナー、2014 年 6 月 6 日、新横浜フジビューホテル
- その他、一般発表 48 件
- 誌上発表
1. M. Yoshida, A. Kobayashi, A. Nakayama, K. Namba, *Tetrahedron*, **2016**, *in press*.
 2. M. Yoshida, A. Kobayashi, K. Namba, *Heterocycles*, **2016**, *in press*.
 3. A. Nakayama, S. Nishio, A. Otani, A. Mera, A. Osawa, K. Tanino, K. Namba, *Chem. Pharm. Bull.*, **2016**, *in press*.
 4. K. Namba, K. Takeuchi, Y. Kaihara, M. Oda, A. Nakayama, A. Nakayama, M. Yoshida, K. Tanino *Nat. Commun.* **2015**, *6*, 8731.
 5. M. Shibata, R. Fuchigami, K. Namba, K. Tanino. *Tetrahedron* **2015**, *71*, 4495-4499.
 6. K. Namba, A. Osawa, A. Nakayama, A. Mera, F. Tano, Y. Chuman, E. Sakuda, T. Taketsugu, K. Sakaguchi, N. Kitamura, K. Tanino. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 1083-1093.
 7. R. Araki, K. Kousaka, K. Namba, Y. Murata, J. Murata. *Plant. J.* **2015**, *81*, 233-246.
 8. Y. Murata, Y. Itoh, T. Iwashita, K. Namba. *PloS one*, **2015**, *10(3)*, e0120227.
 9. Y. Yoshida, T. Mizuguchi, K. Namba, K.; *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 14550-14554.
 10. K. Namba, Y. Shobo, K. Fujimoto, I. Shoji, K. Tanino. *Eur. J. Org. Chem.* **2014**, 5196-5203.
 11. Y. Yoshida, T. Kasai, K. Namba. *Synlett*, **2014**, *25*, 1160-1162.
 12. Y. Yosida, K. Kinoshita, K. Namba. *Org. Biomol. Chem.* **2014**, *12*, 2394-2403.-----