

—Review—

高度に官能基化された生理活性シクロアルケノイド類の全合成による構造決定

宇佐美 吉英

Structure Determination by Total Syntheses of Naturally Occurring
Bioactive Highly Functionalized Cycloalkenoids

Yoshihide USAMI

Osaka University of Pharmaceutical Sciences, 4-20-1, Nasahara, Takatsuki, Osaka 569-1094, Japan

(Received October 1, 2007; Accepted November 19, 2007)

Recent progress in spectral analyses, especially two or more dimensional NMR techniques, have made structure determinations of complex natural products possible. However in some cases the structures of small-sized natural products, which have some kinds of torsion strains within molecules, cannot be determined by such modern analytical methods. In such cases, only total syntheses can provide the answers. Total syntheses of trichodenones A-C and pericosines for the determination of their stereostructures are herein described to demonstrate the power of synthetic organic chemistry. Both trichodenones and pericosines are small-sized, highly-functionalized cycloalkenoids and metabolites of microorganisms derived from marine sources. In natural product chemistry especially, the fact that the structure of the antitumor natural product pericosine A was revised as (+)-**22** by its first total synthesis from the **18** originally proposed is important.

Key words—total synthesis; structure determination; small-sized molecule; natural product; trichodenone; pericosine

1. 序論

近年、NMRを中心とする各種スペクトル解析技術のめざましい進歩は、種々の複雑な分子の構造解析を可能にしてきた。しかしながら、今日においてもそのような最新の方法を以てしても構造を解析できない場合がある。それは、一見、単純と思われる小さいサイズの分子においては、返ってよくあることである。天然に存在する生理活性化合物の多くは、サイズが小さく、しかも高度に官能基化されており、その上、例えば環構造内に二重結合を有する場合など、それによる歪みを持っているため、一層スペクトル解析を困難なものに

することがある。また、同時に、そのような小さいサイズの分子、特に分子量 500 以下のものは、創薬という観点から大変魅力的なものである。そういった理由で筆者は、小さいサイズの生理活性天然有機化合物の全合成を主な研究テーマとしてきた。

本学、旧有機薬化学教室における海洋由来の微生物が産生する細胞毒性代謝産物の探索研究において、trichodenone 類^{1,2)}および pericosine 類³⁾という 2 系統の細胞毒性天然物が単離され、構造が与えられた。しかしながら、スペクトル解析では、その絶対構造を決定するには至らなかった。そこで、筆者は、これらを明らかにするために立体選択的

全合成研究を計画し、それらを実行、達成し、未解明であった絶対構造を明らかにすることができた。特に、*in vivo* 試験において抗腫瘍性が示された pericosine A の最初に提案された構造 **18** の誤りを指摘し、真の pericosine A(+)-**22** を全合成することによってこれを訂正することができたことは、天然物化学上、非常に意義深い。

このような研究は、有機合成化学の威力と魅力を発揮することのできた良い例であると考えられる。

2. Trichodenone A - C の全合成^{4,5)}

Trichoderma 属の真菌の代謝産物として特徴的な C₇-cyclopentenone 化合物群があり、それらは、酸素官能基の付いている位置によって大きく2つの系統に分かれている。Trichodenone A-C **1-3** は、和歌山県印南町沿岸で採取されたクロイソカイメン (*Halichondria okadai*) より分離した真菌 *Trichoderma haruzianum* OUPS-N115 の細胞毒性代

謝産物である (Fig. 1)¹⁾。これらは、いずれも高度に官能基化された C₇-cyclopentenone 構造を有しており、**1** と **3** は不斉炭素を1つしか持っていないためスペクトル解析では絶対構造を決定することはできない。また、**2** においても不斉中心の1つが側鎖に存在し、側鎖の自由回転のために相対配置すら決定することはできなかった。また、これらは、いずれも P388 マウスリンパ性白血病細胞に対して有意な細胞毒性を示し、中でも、**1** が最も強い活性 (ED₅₀: 0.21 μg/mL) を示した。

2-1. Trichodenone A **1** の合成

光学活性な原料 **4** に対し、Et₂O 中、0°C で vinyl Grignard 反応剤を作用させたところ、かさ高い4位の置換基に対して反対側に vinyl 基の導入されたアルコール **5** が単一生成物として得られた。次に、Bu₄NF を作用させ、脱保護してジオール **6** とした後、PDC で2級水酸基を酸化して **1** を得た。(Chart 1)

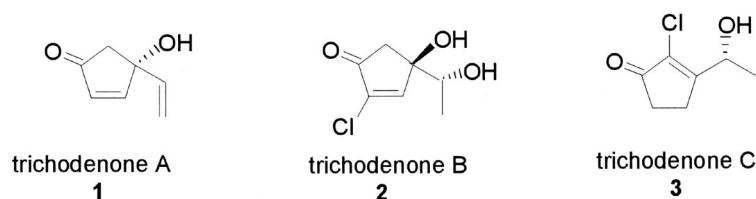


Fig. 1. Structures of Trichodenones A-C

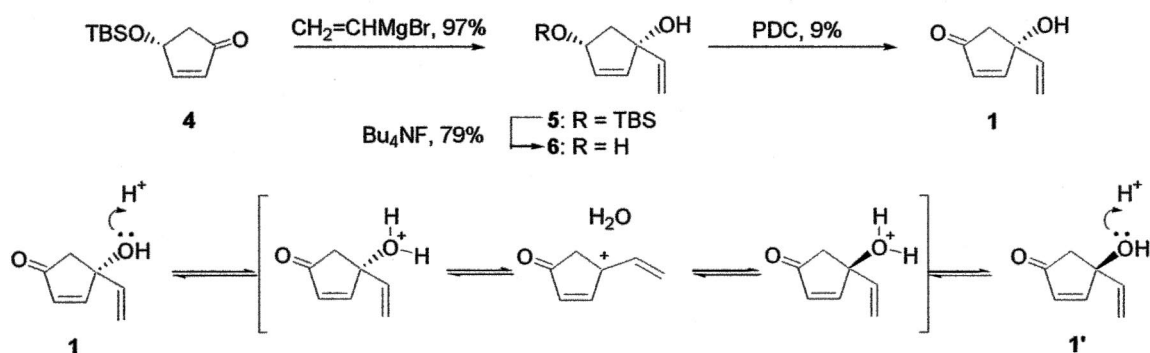


Chart 1. Synthesis of Trichodenone A and Plausible Mechanism for Interconversion Between Enantiomers

得られた**1**の比旋光度は、+141.6°であり、報告された天然物の比旋光度(+56.3°)の約3倍の値を示した。原料のエナンチオマーを用いて同じ反応を行い、同様の変換を行って得られた目的物の対掌体の比旋光度は、やはり+145.4°であった。そこで、光学活性カラムを用いるHPLC分析で、別途合成したラセミ体を用いて両対掌体が分離する条件を検討した。初めに報告された天然物のサンプルを得ることができなかったため、同菌を文献記載の条件で再度、2度培養し、**1**を単離した。新たに二度得られた**1**の比旋光度は、それぞれ+41.0°、+8.5°であり、これらを先ほど述べた条件下でHPLC分析に付したところ、比旋光度に見合った比率で両エナンチオマーが混じっていることが分かった。この原因については、Chart 1 下段に示したような機構における、カーボカチオンを経る両エナンチオマー間の変換が考えられる。このようにエナンチオマーが任意の比率で混

合しているという例は、天然物化学上、まれな非常に興味深い例である。⁶⁾

2-2. Trichodenone B (2) の合成

Trichodenone B **2**, C **3** は、生合成的に同じ前駆体を経由してできてきているはずだという仮定のもとに、共通の合成中間体**7**を設定し、Chart 2のような逆合成戦略を立てた。しかし、研究開始当初、**2**の相対配置は、明らかになっていなかったため、ここで**7**の両ジアステレオマーを得ることが必要であった。即ち、ケトン**8**の還元で得られる両ジアステレオマーのうち、片方から**2**を合成し、他方のジアステレオマーを**3**に導くことを計画した。なぜなら、中間体**9**を経由して、最終的に**3**において3位の不斉中心は潰されるためである。中間体**8**は、アシルアニオン等価体を用いて共通の原料**4'**より誘導されるはずである。

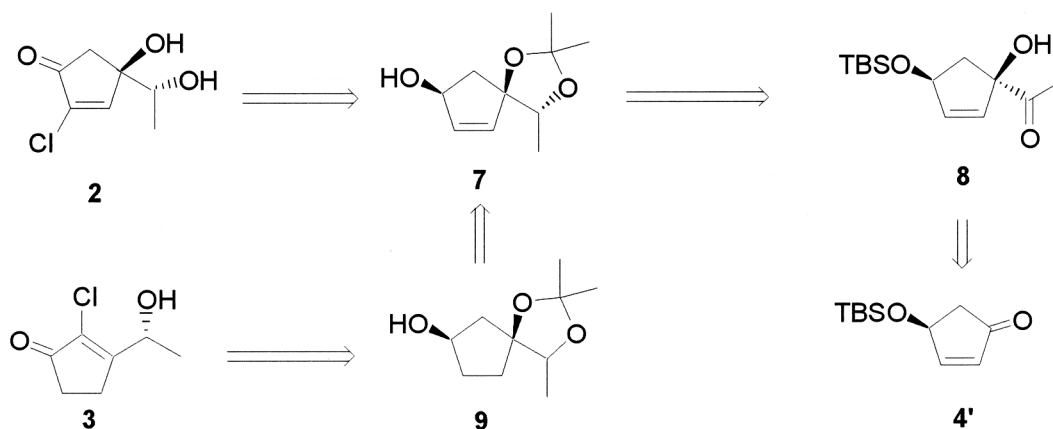


Chart 2. Retro Synthetic Strategy for Trichodenone B and C

(-)-**4** に対して、THF 中、 -78°C でアシルアニオン等価体を作用させたところ、付加物 **10** とその立体異性体 **11** が 10 : 89 の比率で得られた。化合物 **11** に HgCl_2 存在下、加水分解させ、**8** を得た (Chart 3)。化合物 **8** の相対配置については、H-4 と acetyl 基の間に観測された NOE によって決定された。次に、**8** に NaBH_4 を MeOH 中、室温で作用させ、狙い通りジオール **12** を約 1 : 1 の立体異性体の混合物として得ることができた。これをアセ

トナイド **13a**, **13b** へと変換し、さらに脱シリル化してアルコール **7a**, **7b** とした時点で両異性体を分離、NOESY 解析により立体構造を決定した。尚、これ以降の実験では、**8** から **12** への立体選択的還元が必要となったため、種々条件検討した結果、THF 中、 -78°C における DIBAL を用いる還元が、**13b** を優先的に与える **12** のジアステレオマー混合物となることがわかった (Chart 4)。

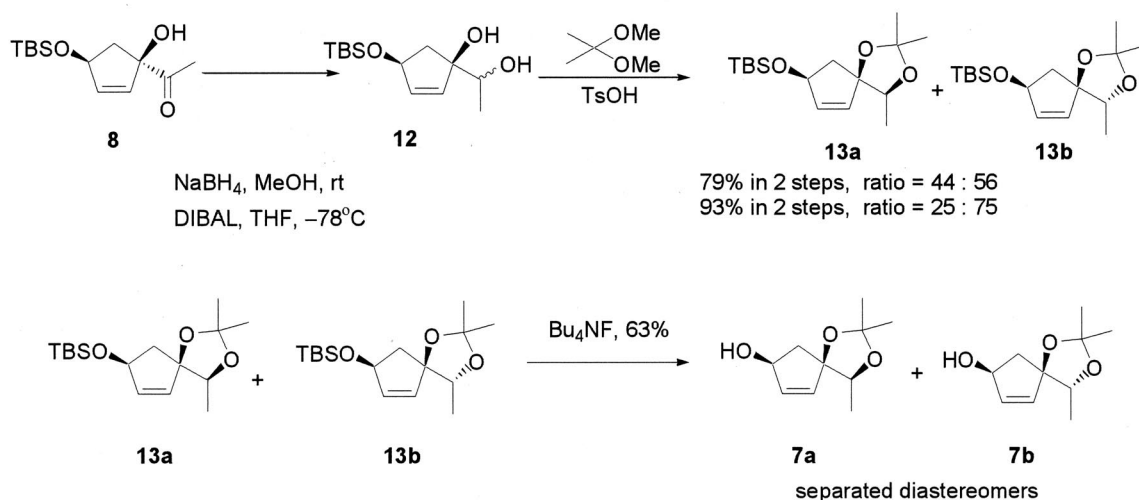
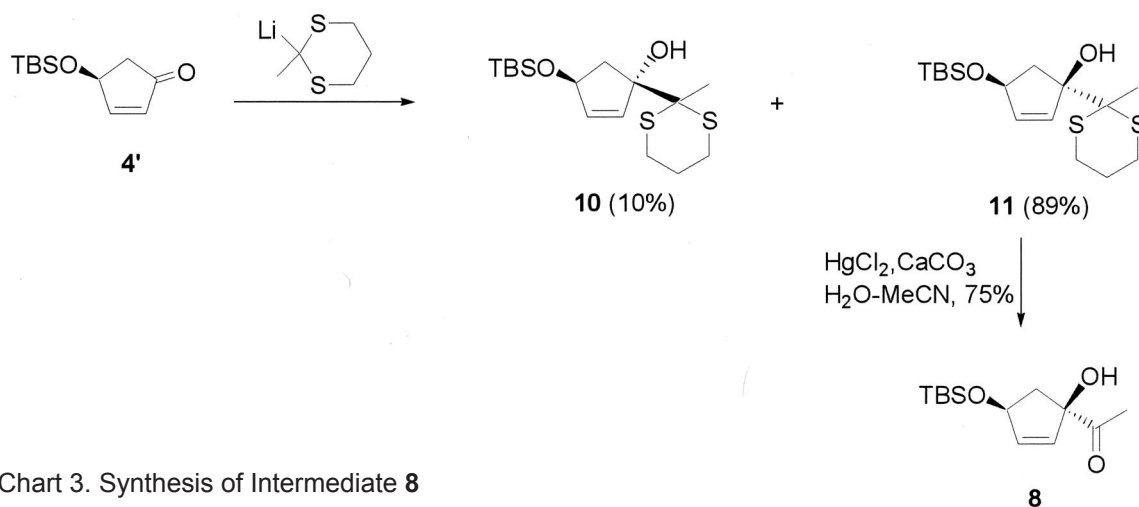


Chart 4. Reduction of **8** and Separation of Diastereomers

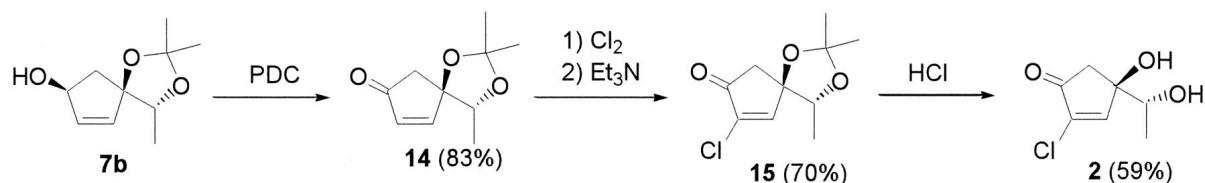


Chart 5. Completion of Synthesis of Trichodenone B

立体異性体 **7b** は、Chart 5 に従って、エノン **14**、とクロル体 **15** を経て、ジオール体 **2** へと誘導することに成功し、天然物との比旋光度の一致を見たため天然物 **2** の相対および絶対配置を図のよう

2-3. Trichodenone B (**3**) の合成

2級アルコール **7b** を Chart 6 に従って、**3** へと変換し、比旋光度を含む全てのスペクトルデータ

が一致したため天然物 **3** の絶対配置を R-配置と決定した。

当初計画では、はじめに、一方の立体異性体 **7a** を用いて Chart 6 同様の変換を試みたが、この立体異性体では、接触還元反応は進行しなかった。詳細は、原著論文を御参照いただきたい。

尚、trichodenone C **3** は、後に名古屋市立大学の塩入らによって二番目の全合成が報告された。⁷⁾

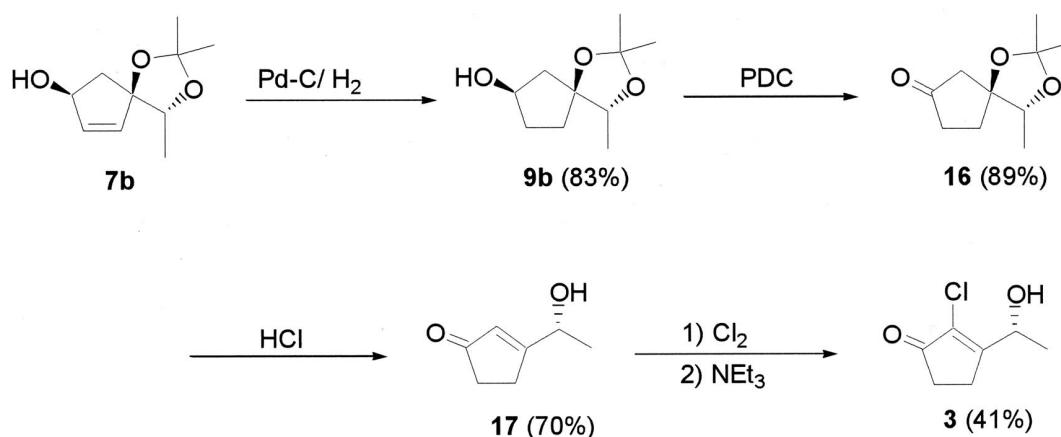


Chart 6. Completion of Synthesis of Trichodenone C

3. Pericosine 類の全合成⁸⁻¹³⁾

Pericosine A および B は、大阪府泉南郡岬町で採取されたアメフラシ (*Aplysia kurodai*) より分離した真菌 *Periconia byssoides* OUPS-N133 の細胞毒性代謝産物であり、1997 年に報告された原著において提起された構造 **18**, **19** を図に示した (Fig. 2). これらもまた、高度に酸素官能基化された cyclohexene 構造を有しており、これらは、スペクトル解析では絶対構造を決定することは出来なかった。また、pericosine A は、P388 白血病マウスにおける *in vivo* 試験において有意な延命率を示し、その他、プロテインキナーゼ阻害活性、トポイソメラーゼ阻害活性が認められた。

Pericosine B については、1998 年にイギリスの Donohoe らのグループによって全合成が報告され、その絶対配置 (**19**) が明らかとなった¹⁴⁾。しかし、より生理活性の高い pericosine A の絶対構造については、その後 10 年近く未解明のままであった。

また、同時に筆者は、この種の化合物が偽糖 (pseudo-sugar or carba-sugar) 構造を有していることに強い関心を持った。それは、本研究開始当時の 1997 年前後、現在話題となっている経口抗インフルエンザウイルス薬 Tamiflu® の合成研究¹⁵⁻¹⁹⁾ が学術雑誌上を賑わしており、また、その前の抗インフルエンザウイルス薬であるザナビルの開発²⁰⁾ の経緯など大変興味深いものであったからである。Tamiflu® およびザナビルは、インフルエンザウイルスの表面に存在する酵素ノイラミニダーゼを阻害することにより、ウイルスの増殖を抑える。この酵素の本来の基質は、N-アセチルノイラミン酸というアミノ糖であり、これらの抗ウイルス薬は、偽糖構造を採っているために活性を発現する。Tamiflu® は、その後の 2000 年 12 月、日本において認可が下りている。

本章では、**18**, pericosine B のエピマー **20**, pericosine A のジアステレオマー **21**, 真の pericosine A **22** の合成について述べる。

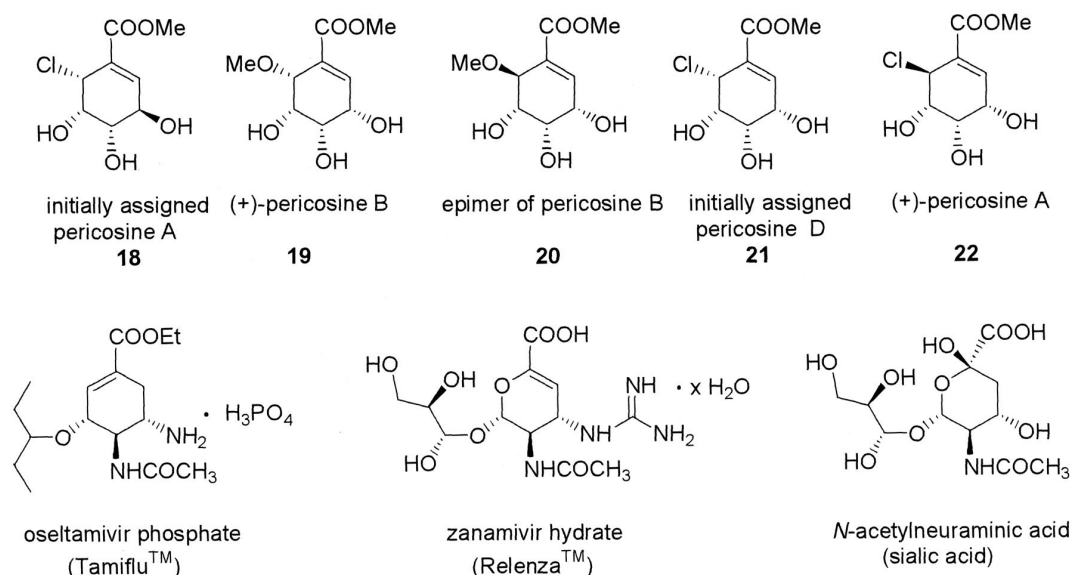


Fig. 2. Structures of Pericosines and Anti-Influenza Drugs

3-1. Pericosine B のエピマーの合成⁹⁾

Pericosine 類の合成を検討し始めた当初、pericosine B **19** の合成を目指したが、望みの立体化学を有する 6 位の MeO 基の導入が困難であったことより、⁸⁾ **19** そのものではなく、立体異性体である **20** の合成について検討した。前述のように、当時、Donohoe らによって、購入可能な (+)-ブロモシクロヘキサジエンジオールを原料として用いる **19** の全合成が報告された。¹⁴⁾ 筆者らは、原

料として比較的安価で購入可能なキナ酸 **23** を用い、Chart 7 に示した経路で、目的の **20** を合成することに成功した。この化合物の相対配置は、後で述べるように結果的に真のペリコシン A と同じであったためペリコシン A の構造を推定する上で、大変意義深い研究となった。当然、*cis,cis,cis*-tetraol 誘導体 **26** からの天然物である **19** への誘導についても検討したが、選択的モノメチルエーテル化は、やはり良好な結果を与えなかった。

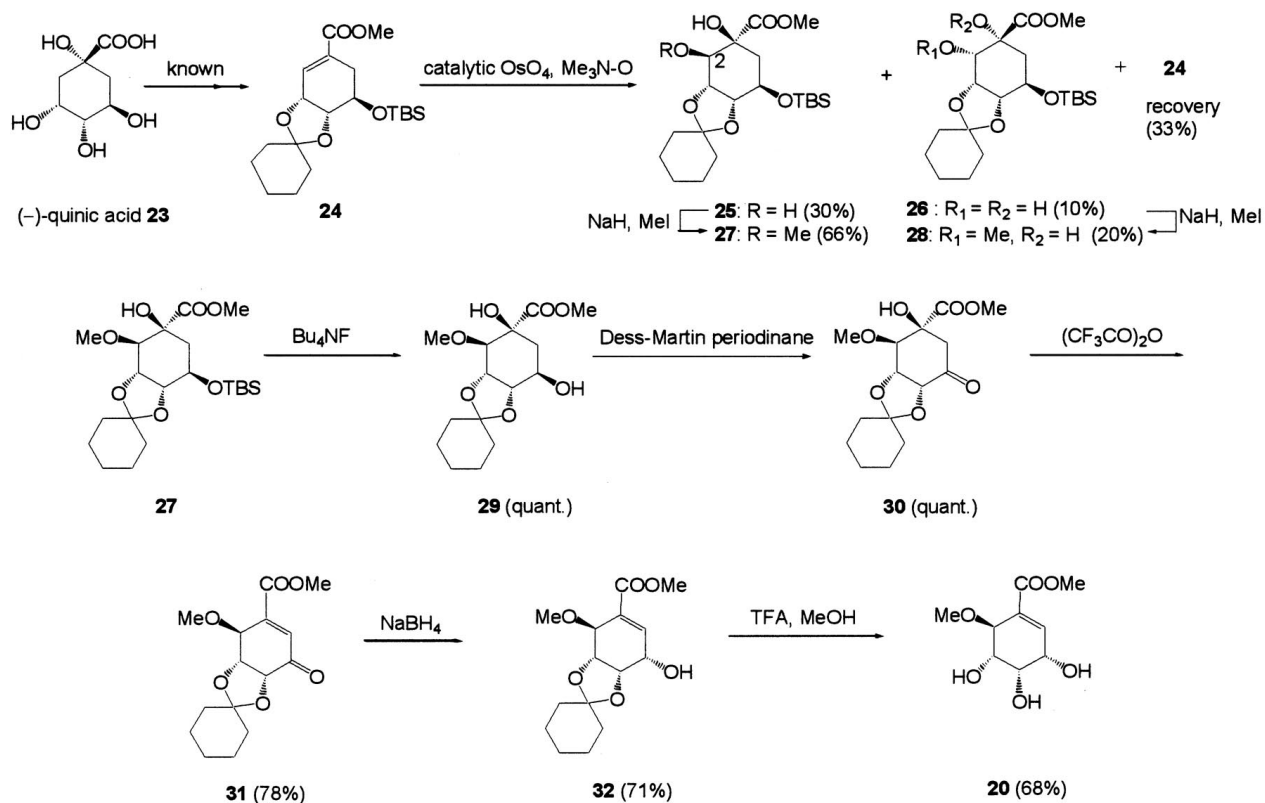


Chart 7. Synthesis of Epimer of Pericosine B from (-)-Quinic Acid

3-2. Pericosine A の立体異性体合成^{10, 11)}

この研究は、pericosine A および D³⁾ の全合成^{21, 22)} として始められた。それは、勿論、**18** および **21** が、それらのはじめに提出された構造であったためであり、これらは互いに 3 位におけるエピマーであるため、**23** から誘導される共通中間体であるエノン **41** から合成することができると考えられたからである。

本合成は、各段階における各種高立体選択的反応を駆使して Chart 8 に従って進められ、目的の **41** へと導き、脱 TMS 化して得られた **42** を $\text{Me}_4\text{NBH}(\text{OAc})_3$ を用いて、4 位の水酸基と同じ方向から還元剤が攻撃することにより、望みの立体化学を有する **18** を得ることができた。

また、Chart 9 に示したように、**41** に対して NaBH_4 を用いて還元し、嵩高い OTMS 基に対して

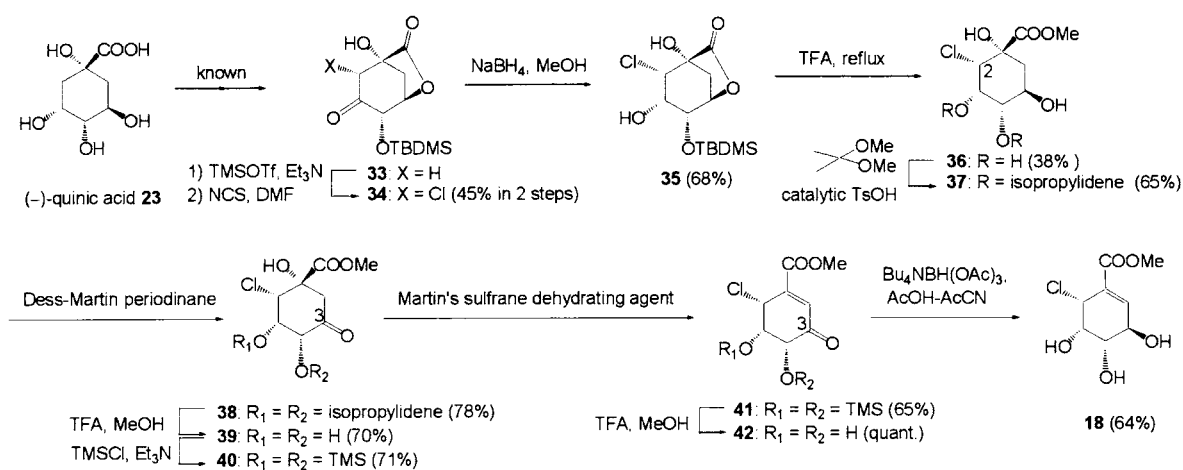


Chart 8. Total Synthesis of Initially Assigned Pericosine A from (-)-Quinic Acid

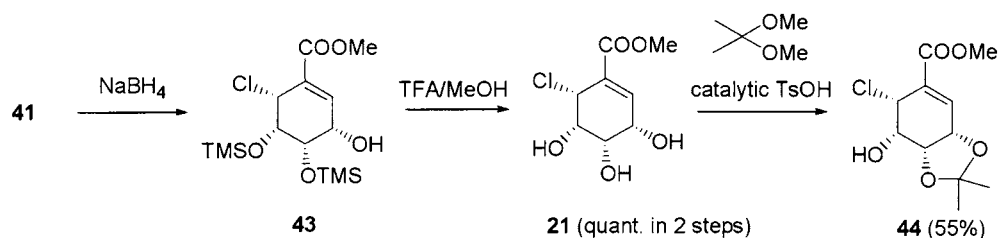


Chart 9. Synthesis of Another Diastereomer (Initially Assigned Pericosine D)

反対側から還元剤が攻撃することによってエノール **43** とし、続いて脱 TMS 化して目的のトリオール **21** へと導くことができた。エノール **43** の 3 位の立体化学は、**21** をアセトナイド **44** へと導くことで確認された。目的物 **18** は、**21** と違うことが確認されたため **18** の 3 位の立体配置は、Fig. 2 で示したように決定され、**18** および **21** の立体選択的全合成は、達成された。

しかし、合成された 2 つの目的物 **18**, **21** のスペクトルが、いずれも pericosine A および D のものと一致しなかった。また、これらの報告されているアセトナイドも天然物のアセトナイドと異なっていたことから、はじめに提出された天然物の構造がいずれも誤りであることが判明した。

3-3. Pericosine A の全合成^{12, 13)}

前述のとおり、**18** は、pericosine A ではなかったため、真の構造を解明することが次の課題となった。オリジナルの天然物のスペクトルデータに加えて、これまで合成した類縁化合物の NMR データを徹底的に比較検討した結果、**20** と pericosine A の ¹H-NMR における結合定数が極めて近い値をとることが見出された。そこで、筆者らは、真の pericosine A の構造を **22** であると推定し、その合成について検討することとした。

基本的な合成ルートは、**20** のものと同様である。工程数削減のため原料として shikimic acid **45** を用い、Chart 10 に従って、実験を行い、中間体であるエノール **55** とした。計画では、SOCl₂ によ

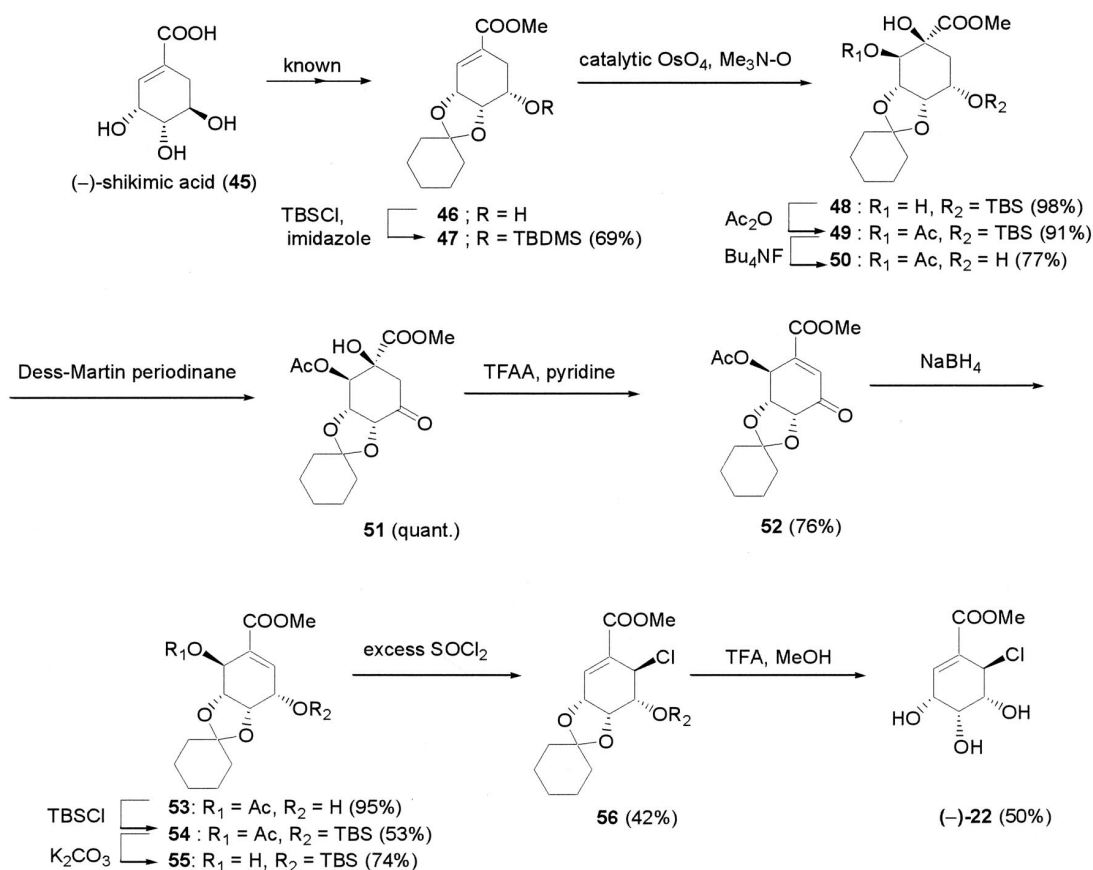


Chart 10. First Total Synthesis of (-)-Pericosine A from (-)-Shikimic Acid

り, S_Ni 反応を経て **22** へと導く予定であったが, 意に反して, 塩素化反応において二重結合の移動を伴った塩素化体 **56** を与えた. この中間体 **56** の構造は, 各種 2 次元 NMR スペクトルデータの詳細な解析によって確認された. 以下, **56** を加水分解によってアセトナイド部分を脱保護して, (-)-**22** へと導いた. このものの比旋光度を除く各種スペクトルデータは, 天然物のものと完全に一致したため, ここに天然物の相対配置は決定された. また, 合成された (-)-**22** の比旋光度は, 天然物のそれと符号が逆であり, 絶対値がほぼ同じであったため, これは, 天然物の対掌体であると結論され, 同時に天然物の絶対構造を methyl (3*S*,4*S*,5*S*,6*S*)-6-chloro-3,4,5-trihydroxy-1-cyclohexene-1-carboxalate と決定した.

先の合成によって得られたものが天然物の対掌体であったため, 続いて, 天然型の pericosine A の全合成について検討した. 中間体 (+)-**46** は, **23** より合成することができることが既に報告されている.²³⁾ この方法に多少の改良を加えて (+)-**46** を合成し,¹³⁾ 以下 Chart 10 と同様な操作を経て, 天然型の (+)-pericosine A **22** の合成を達成した (Chart 11).

現在, **22** の効率的な合成経路の開発²⁴⁾ および pericosine D の構造決定のための全合成²⁵⁾ について検討中である.

尚, ここに示した pericosine A **22** は, ドイツの IRIS Biotech GmbH 社および CFM Oskar Tropitzsch 社のカタログに, pericosine B のエピマー **20** は, フランスの Chemstep という会社のカタログにそれぞれ収載されており, SciFinder 上では購入可能ということになっている.

4. おわりに

サイズが小さいが故に, 返って構造が決めにくい場合は, 立体選択的全合成によってその絶対構造を決定しなければならない例をここに示した. これにより, 有機合成化学の醍醐味の一端を味わっていただければ幸いである. 筆者の用いる反応の多くは, 教科書レベルのごく簡単な反応ばかりである. しかし, それらを立体選択性も考慮して, 効果的に組み合わせて全合成を行えば, 充分意義のある研究を展開することができ, スペクトル解析では決定できなかった化合物の構造を明らかにすることができる. 勿論, 本論文に登場する

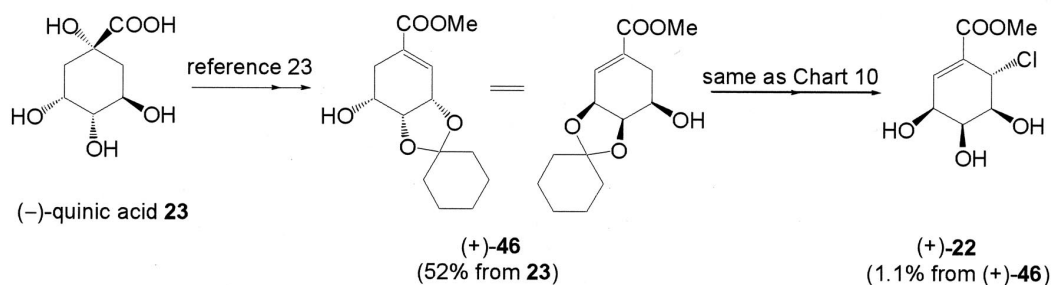


Chart 11. Total Synthesis of (+)-Pericosine A from (-)-Quinic Acid

各段階における中間体の構造を決めているのは、各種NMRスペクトルの詳細な解析によるものであり、現代の有機化学において、そのような技術無くして構造の決定は考えられないのも事実である。

今後は、筆者が携わった絶対構造未解決の含硫黄ジケトピペラジン型天然物^{26, 27)}の合成研究を展開する予定で、現在、その基礎研究を行っているところである。²⁸⁾この種の天然物の光学活性体の合成は、現在までのところ世界に例を見ない。2006年夏、筆者が米国・ノースカロライナ大学留学中に、著名なカリフォルニア大学のLarry Overman教授ご自身からE-メールを頂き、筆者が単離、報告した硫黄を含まない関連化合物 gliocladin²⁷⁾を全合成したとの連絡を受けた。²⁹⁾彼のような超一級の化学者も同じ目標に向かって研究を進めている。また、最近、pericosineの母骨格であるシクロヘキセノイドの合成が再注目されている。³⁰⁾

はじめに述べたように、小さいサイズの生理活性化合物は、創薬という視点からも魅力的であると考えており、今後は、これらをシード(種)として様々な誘導体を合成し、その中から「くすり」という実をならせたいと願っている。

謝辞 本論文に示された研究は、大阪薬科大学・旧有機薬化学教室並びに有機分子機能化学研究室において行われたものであり、研究に携わった研究室のすべての教員、学生に深く感謝いたします。NMR, MS, 元素分析の労を取られた本学・箕浦克彦博士、藤嶽美穂代先生、岡部しずか先生に合わせて謝意を表します。研究の一部は、文部科学省、私立大学学術研究高度推進事業による本学ハイテクリサーチセンター補助金(2001 - 2006)を使って行われたことを併せて記し、謝意を表します。

REFERENCES

- 1) Amagata, T.; Usami, Y.; Minoura, K.; Ito, T.; Numata, A. *J. Antibiot.*, **51**, 33–40 (1997).
- 2) Li, X.; Kim, M. K.; Lee, U.; Kim, S-K.; Kang, J. S.; Choi, H. D.; Son, B. W. *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 453–455 (2005).
- 3) Numata, A.; Iritani, M.; Yamada, T.; Minoura, K.; Matsumura, E.; Yamori, T.; and Tsuruo, T. *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8215–8218 (1997).
- 4) Usami, Y.; Numata, A. *Synlett*, 723–724 (1999).
- 5) Usami, Y.; Ikura, T.; Amagata, T.; Numata, A. *Tetrahedron: Asymmetry*, **11**, 3711–3725 (2000).
- 6) Kobayashi, K.; Kawazoe, K.; Kitagawa, I. *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 1676–1681 (1989).
- 7) Sakai, A.; Aoyama, T.; Shioiri, T. *Tetrahedron Lett.*, **41**, 6859–6863 (2000).
- 8) Usami, Y.; Numata, A. *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 1125–1129 (2004).
- 9) Usami, Y.; Hatsuno, C.; Yamamoto, H.; Tanabe, M.; Numata, A. *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 1130–1133 (2004). (Erratum: *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 721 (2005).)
- 10) Usami, Y.; Ueda, Y. *Chem. Lett.*, **34**, 1062–1063 (2005).
- 11) Usami, Y.; Ueda, Y. *Synthesis*, 3219–3225 (2007).
- 12) Usami, Y.; Horibe, Y.; Takaoka, I.; Ichikawa, H.; Arimoto M. *Synlett*, 1598–1600 (2006).
- 13) Usami, Y.; Takaoka, I.; Ichikawa, H.; Horibe, Y.; Tomiyama, S.; Ohtsuka, M.; Imanishi, Y.; Arimoto, M. *J. Org. Chem.* **72**, 6127–6134 (2007).
- 14) Donohoe, T. J.; Blades, K.; Helliwell, M.; Waring, M. J.; Newcombe, N. *J. Tetrahedron Lett.*, **39**, 8755–8758 (1998).
- 15) Kim, C. U.; Lew, W.; Williams, M. A.; Zhang, L.; Liu, H.; Swaminathan, S.; Bischofberger, N.; Chen, M. S.; Tai, C. Y.; Mendel, D. B.; Laver, W. G.; Stevens, R. C. *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 681–690 (1997).
- 16) Lew, W.; Williams, M. A.; Mendel, D. B.; Escarpe, P. A.; Kim, C. U. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 1843–1846 (1997).
- 17) Zhang, L.; Williams, M. A.; Mendel, D. B.; Escarpe, P. A.; Kim, C. U. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 1847–1850 (1997).

- 18) Williams, M. A.; Lew, W.; Mendel, D. B.; Tai, C. Y.; Escarpe, P. A.; Laver, W. G.; Stevens, R. C.; Kim, C. U. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **7**, 1837–1842 (1997).
- 19) Rohloff, J. C.; Kent, K. M.; Postich, M. J.; Becker, M. W.; Chapman, H. H.; Kelly, D. E.; Lew, W.; Louie, M. S.; McGee, L. R.; Prisbe, E. J.; Schultze, L. M.; Yu, Richard H.; Zhang, L. *J. Org. Chem.*, **63**, 4545–4550 (1998).
- 20) von Itzstein M.; Wu W. Y.; Kok G. B.; Pegg M S; Dyason J C; Jin B; Van P. T.; Smythe M. L.; White H. F.; Oliver S.W.; Colman, P. M.; Varghese, J. N.; Ryan, D. M.; Woods, J. M.; Bethell, R. C.; Hotham, V. J.; Cameron, J. M.; Penn, C. R. *Nature* **363**, 418–423 (1993).
- 21) Yamada, T. Ph D thesis, Osaka University of Pharmaceutical Sciences, Japan (2002).
- 22) Yamada, T.; Minoura, K.; Numata, A. 119th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Abstract 2, p. 159, Tokushima, Japan (1999).
- 23) Ulibarri, G.; Nadler, W.; Skrydstrup, T.; Audrain, H.; Chianori, A.; and Riche, C.; Grierson, A. A. *J. Org. Chem.*, **60**, 2753–2761 (1995).
- 24) Usami, Y.; Takaoka, I.; Ichikawa, H.; Horibe, Y.; Tomiyama, S.; Ohtsuka, M.; Imanishi, Y.; Ohsugi, M.; Arimoto, M. 49th Symposium on the Chemistry of Natural Products, Symposium papers, p. 673–678, Sapporo, Japan (2007).
- 25) Usami, Y.; Mizuki, K.; Ichikawa, H.; Arimoto, M. 57th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan Kinki-branch, Abstract, p. 36, Osaka, Japan (2007).
- 26) Usami, Y.; Aoki, S.; Hara, T.; Numata, A. *J. Antibiot.*, **55**, 655–659 (2002).
- 27) Usami, Y.; Yamaguchi, J.; Numata, A. *Heterocycles*, **63**, 1123–1129 (2004).
- 28) Kioka, C.; Arimoto, M.; Ichikawa, H.; Masutani, K.; Usami, Y. 22nd International Symposium of the Organic Chemistry of Sulfur (ISOCS-22) Abstract, p. 76, Saitama, Japan (2006).
- 29) Overman, L. E.; Shin, Y. *Org. Lett.*, **9**, 339–341 (2007).
- 30) Enders, D.; Huettl, M. R. M.; Grondal, C.; Raabe, G. *Nature*, **441**, 861–863 (2006).