

抗腫瘍性天然物 pericosine A の新規合成法の開発と 誘導体の生理活性について[†]

宇佐美 吉英*

Development of New Synthetic Route for Antitumor Natural Product Pericosine A and Evaluation of Bioactivity of Pericosines

Yoshihide USAMI*

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

(Received October 8, 2009; Accepted November 12, 2009)

Recently there was a report about the isolation of pericosines A–E, which are unique and highly functionalized cyclohexenoid metabolites of *Periconia byssoides* OUPS-N133, a substance that was originally separated from the sea hare, *Aplysia kurodai*. Pericosine A showed remarkable inhibitory activity against protein kinase EGFR (epidermal growth factor receptor) and topoisomerase II in addition to *in vivo* antitumor activity against P388 cells. The absolute stereostructures of pericosines A–C were elucidated by performing total syntheses. However, our first successful synthesis of pericosine A gave a low total yield. Thereafter, we developed a more efficient route for synthesizing (+)-pericosine A, the key steps of which are the regio- and stereoselective bromohydrination of an unstable diene derived from (–)-quinic acid and the regio- and stereoselective ring opening of a β -epoxide. This new synthetic route was also applicable to (+)-pericosine C and (–)-pericosine C. In addition, the absolute configuration of pericosine D was elucidated via a short synthesis that involved stereoselective ring opening of another β -epoxide, which is a diastereomer of what was described above. As a result, natural pericosine D was determined to be methyl (3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)-6-chloro-3,4,5-trihydroxy-1-cyclohexene-1-carboxylate. Using the same strategy, the total synthesis of (–)-pericosine B was also achieved.

Key words—pericosine A; antitumor; total synthesis; natural product; pericosine D; structure assignment

はじめに

本稿では、平成 19 年度大阪薬科大学同窓会研究助成による課題「抗腫瘍性天然物 pericosine A の新規合成法の開発と誘導体の生理活性について」において行われた研究内容を紹介する。

近年、本学・沼田らのグループによって海洋生物アメフラシから単離された真菌 *Periconia*

byssoides OUPS-N133 の細胞毒性代謝産物として pericosine A–E (**1–5**) の単離および構造決定が報告されたが¹⁾、これらのうち pericosine A (**1**) は、*in vivo* における抗腫瘍性が認められた他、protein kinase EGFR (上皮成長因子受容体) およびヒト・トポイソメラーゼ II に対する顕著な酵素阻害活性を示すことが記されているため、抗がん薬の開発に繋がる活性を有する本化合物の合成研究は、窮

[†] 平成 19 年度大阪薬科大学同窓会研究助成による課題

* 大阪薬科大学, e-mail: usami@gly.oups.ac.jp

めて意義深いものであると考えられる。その上、pericosine 類は、構造上、一種のカルバシユガーと見ることができるために抗菌作用、抗ウイルス作用、グリコシダーゼ阻害活性など様々な生理作用も期待される。²⁾ 筆者は、これまでに小さいサイズの生理活性天然物の合成研究を行ってきたが、以上述べたような理由で、特に pericosine 類に注目しており、これまでに pericosine A の合成について検討し、最初に報告された構造を有する分子の全合成に成功したが、スペクトルが天然物と一致せず、この研究によって報告されていた天然物の構造に誤りがあることを指摘した。^{5,6)} その後、詳細なスペクトル比較の末、真の pericosine A を推定し、その化合物の天然および非天然型の両エ

ナンチオマーの全合成を達成し、絶対構造の決定を世界に先駆けて報告した。^{7,8)} しかしながら、その合成法は、反応工程数、総収率、他の誘導体合成への応用という点で問題があった。そこで、本研究課題では、より短行程で効率的、また様々な誘導体への応用可能な合成経路の開発について検討することとした。同時に他の天然に存在する pericosine 類の合成についても検討することとした。本研究全体のもう 1 つの特徴は、薬学 6 年制を睨んで、各段階の反応をできるだけ誰にでもできる比較的簡単な反応を組み合わせることである。また、研究過程で派生する新規化合物について生理活性試験を実施し、より有効な化合物の探索を行うという目標で研究を展開した。

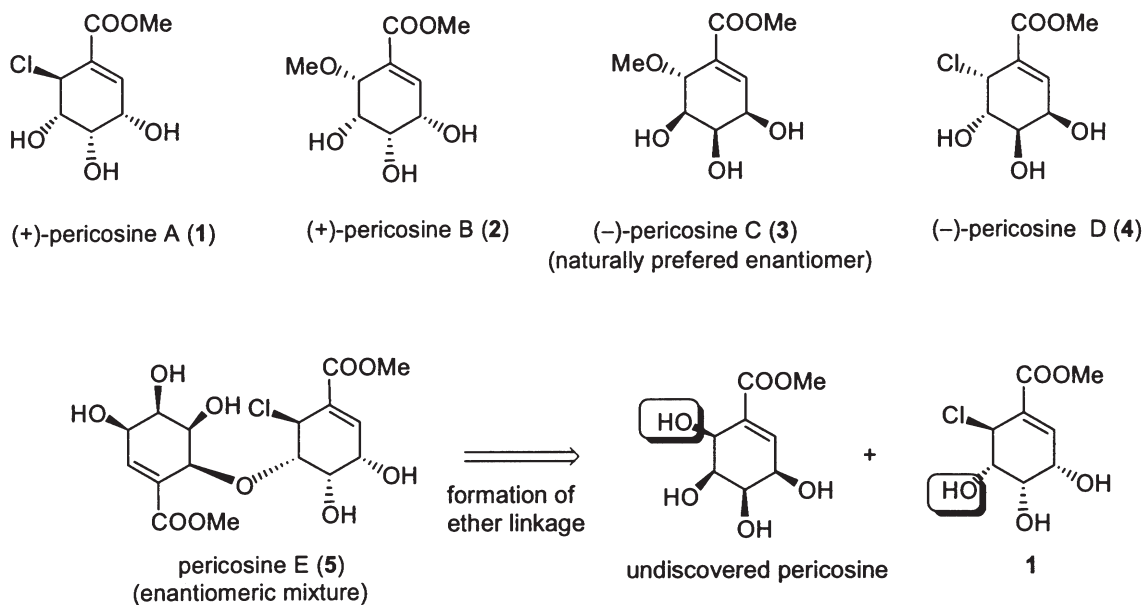


Fig. 1 Structures of naturally occurring pericosines

1. Pericosine A および C の新規全合成法の開発⁹⁾

前述のように筆者は、2007年に、(+)-および(-)-pericosine A (**1**)の全合成による相対配置の訂正および絶対配置の決定を報告した⁸⁾。しかし、その全合成において出発原料である(-)-キナ酸(**6**)からの総工程数は15段階、総収率0.57%とかなり低く、課題が残された。そこで、この注目すべき生理活性を有する天然物**1**の更に効率的

な合成経路の開発について検討した。

(+)-**1**の新しい合成経路をChart 1に示した。まず、比較的安価な**6**を出発物質とし、既知の方法⁸⁾でヒドロキシシクロヘキセン誘導体**7**へと導いた。その後、**7**よりトリフラート**8**を経て、不安定なジエン**9**を合成した。ここで、単離された**7**より**9**を合成すると反応はきれいに進行したが、シリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて精製すると、その収率は39%となった。ジエン**9**に水-ジオキサン中、NBSを作用させると、プロ

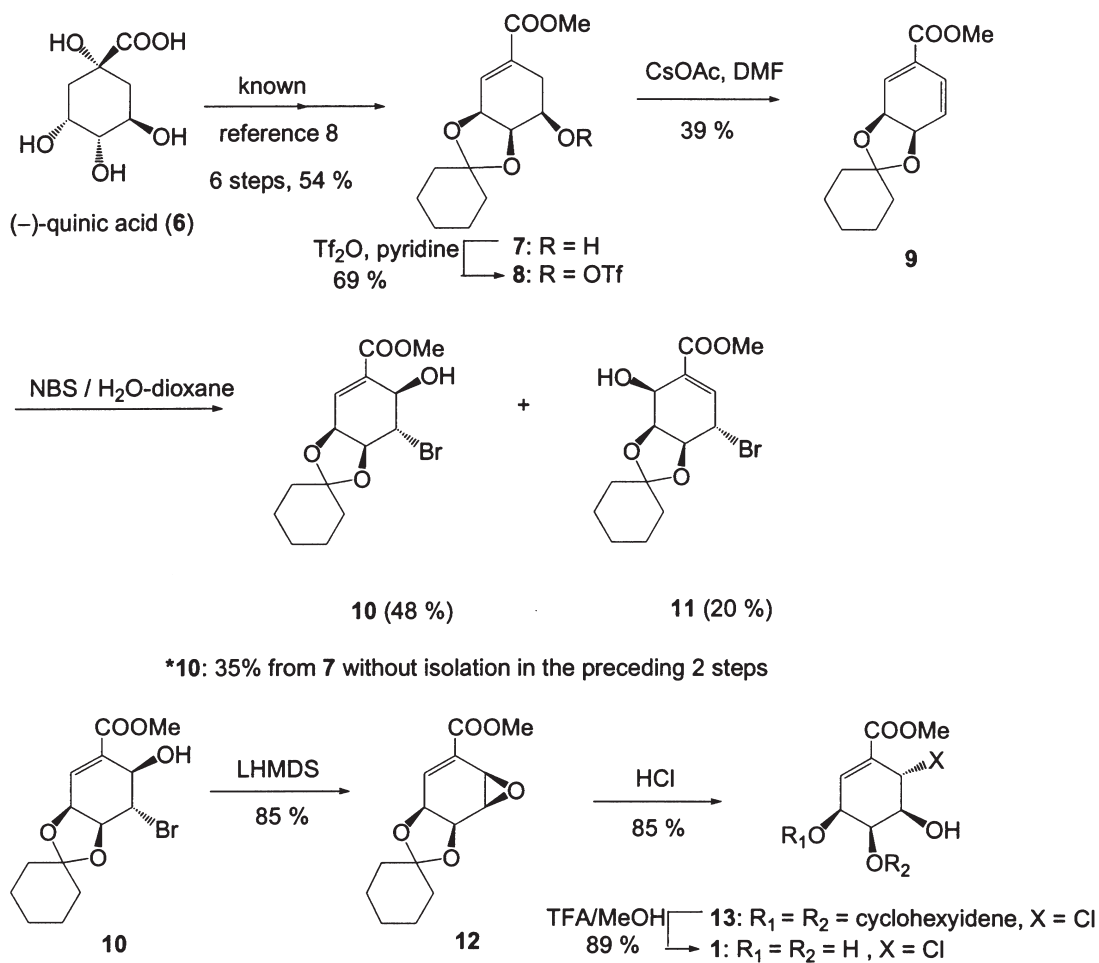


Chart 1 Facile and efficient synthesis of (+)-pericosine A (**1**)

モヒドリン **10** (48 %) および副生成物 **11** (20 %) を与えた. 続いて主生成物 **10** に対して, LHMDS を作用させ, 鍵中間体であるエポキシド **12** を与えた. エポキシド **12** に対し, 無水ジエチルエーテル中, 塩化水素を作用させることにより位置および立体選択的にエポキシドの開環反応が進行し, クロヒドリン **13** を与え, これに対してメタノール中, 室温で TFA を作用させて脱保護し, 目的の (+)-**1** を合成した. 全工程において単離した場合の **6** からの総収率は 4.3 %, **9** の合成を含むいくつかの工程で中間体の単離を省略した際の総収率は 11.7 % であり, 我々が既に報告した最初の全合成の総収率 0.57% を大幅に上回った.

次に, pericosine C (**3**) の合成については, その概略を Chart 2 に示した. 共通中間体 **12** に対してメタノール中, 触媒量の塩化水素を作用させると, **1** の合成と同様の位置および立体選択的開環反応によって β -6-methoxy 体 **14** が生成した. その

後, 同様の脱保護を経て (+)-**3**^{1,10} の合成に成功した.

続いて我々は, 本法を pericosine B (**2**) の合成に応用しようと考えた. 即ち, 中間体 **13** に対し, NaOMe を作用させた時, S_N2 反応が起これば, **2** の前駆物質になるはずであると目論んだわけである. ところが, 実験の結果, 我々の意に反してこの反応生成物は, 二重結合の移動を伴って生成したメトキシアルコール **15** であった. 意に反してはいたものの, このものは, (-)-**3** の前駆物質であり, この発見は, 極めて興味深いものであった. その理由は, 以下のようなものである. 天然物というものは, 通常どちらか一方の対掌体として存在することがほとんどであるのに対し, pericosine 類の単離の報告において「**3** および **5** は, エナンチオマー混合物 (両方の対掌体がある比率で混じっている) として存在する」と記述されている.¹⁾ 以前より筆者は, この事実について自然がどのようにそれを為し得ているのかという点で極

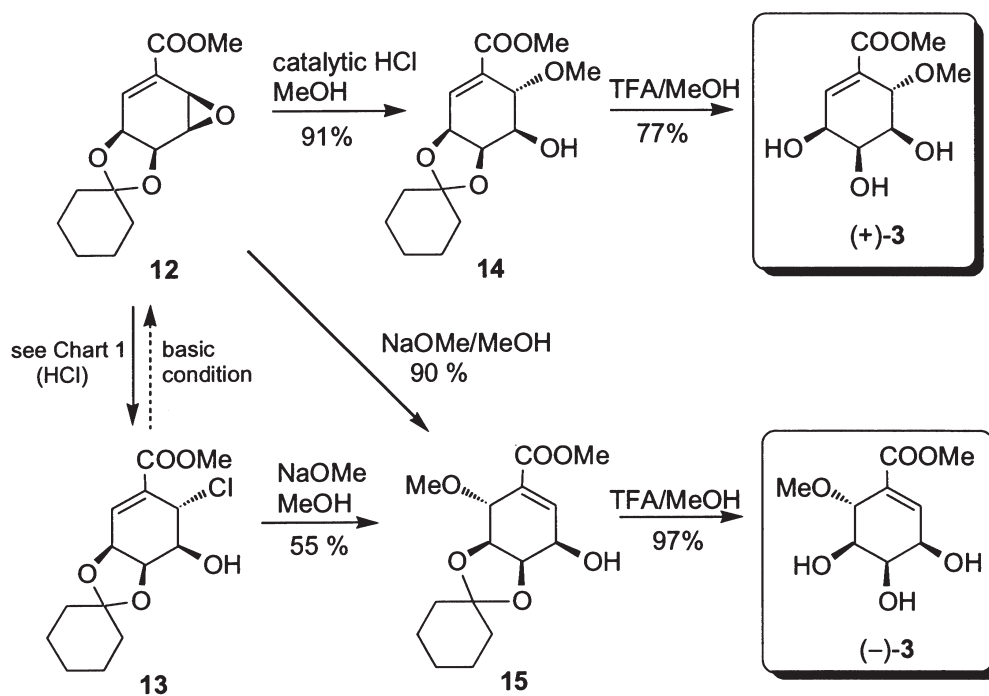


Chart 2 Enantiodivergent synthesis of (+)- and (-)-pericosine C from **12**

めて深い興味を持っており、¹¹⁾ pericosine 類については、両方のエナンチオマーを合成したいと考えてきたのである。上述したように位置および立体選択的にエポキシドの開環反応が進行して生成したメトキシアルコール **15** は、脱保護により予想通り (-)-**3** を与え、我々は、この新規合成経路を用いて同じ中間体 **12** より pericosine C の両エナンチオマーを作り分けることに成功した。尚、**13** から **15** への変換機構に関して、**13** が塩基性条件下で、エポキシド **12** を再生し、このものに NaOMe が S_N2' 型攻撃をするのではないかと考えた。この仮説を立証するために、**12** に対し直接 NaOMe を作用させたところ、予想通りアルコール **15** を与えたため、上記の反応機構は支持された。

さて、ここで述べた同一中間体 **12** からの **3** の両対掌体への変換は、いわゆるエナンチオ分岐合成¹²⁻¹⁴⁾ であるが、天然物の全合成のほぼ最終段階におけるエナンチオ分岐合成の例は皆無に等しい。従って、本合成は、有機合成化学上極めて意義深いと考えられる。

2. Pericosine D の合成による絶対配置の決定¹⁵⁾

続いて、絶対構造未知の pericosine D (**4**) について合成的アプローチによって決定することを試みた。この研究を開始した 2006 年の時点で、

その絶対配置に関する確かな情報は、3,4 位の絶対配置が *cis* であるということだけであった。そして、Fig. 2 に示す考えられる可能なジアステレオマー 4 種 (**1**, **4**, **16**, **17**) のうち **1** と **17** の 2 種は、既に我々によって合成されており、⁵⁻⁸⁾ いずれも pericosine D ではないことがわかってきた。従って、pericosine D は、化合物 **4**, **16** のいずれかであり、これらの合成について研究を開始することとした。

本化合物の合成は、Chart 3 に従って行われた。キナ酸 (**6**) を出発物質とし、既知の方法¹⁶⁾ で先ほどの対掌体である不安定ジエン **18** を合成し、これを *m*CPBA を用いて酸化すると先ほどとは絶対配置の異なる β エポキシド **19** とその異性体 **20** を分離困難な混合物として与えた。混合物のまま無水ジエチルエーテル中、塩化水素を作用させたところ、4 種のクロロヒドリン **21-24** を各々 26, 2, 3 および 2% の収率で与えた。

生成した 4 種のうち、**21** および **22** に TFA を作用させ、それぞれ **16** および **4** を与えた。しかし、両者とも各種スペクトルデータは、報告されている pericosine D のものとは一致しなかった。そこで、報告された天然物のアセトナイドを入手し、これを脱保護反応に付したところ、比旋光度を含むすべてのスペクトルデータが合成した **4** と完全に一致した。これらの実験事実から著者は、**4** を改めて pericosine D と命名し、その絶対構造を (3*R*,4*R*,5*S*,6*R*)- 6-chloro-3,4,5-trihydroxy-

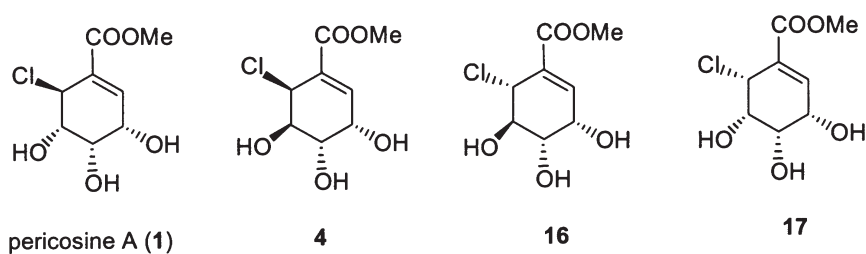


Fig. 2 Four possible 3,4-*cis*-diastereomers of 6-chlorinated pericosines

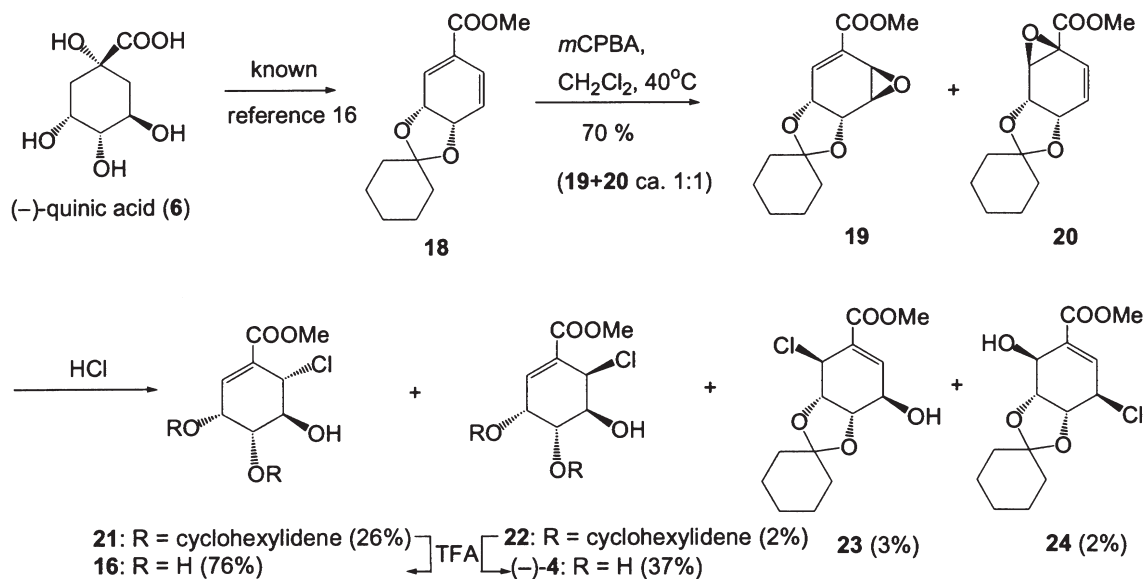


Chart 3 Synthesis of (-)-pericosine D (**4**) and its diastereomer **16**

1-cyclohexene-1-carboxylateと決定するとともに、もともと pericosine Dとして報告されているものと報告されているアセトナイドは対応していない、つまり別の pericosine であると結論した。

3. (-)-Pericosine B の全合成¹⁷⁾

(+)-Pericosine B (**2**) は、単離の報告⁴⁾の翌年に Donohoe らによる天然型の全合成が報告され、その絶対配置が決定されているが、その唯一の成功例は、高価な出発物質を用いること、毒性の強い四酸化オスミウムを等量用いる工程があるという点で問題がある。

一方、繰り返しになるが 2007 年の沼田らによる pericosine 類の単離、構造決定の報告には **3** および **5** がエナンチオマー混合物として得られたと記載されており、¹⁾ しかも、よく見てみると Fig. 1

に示したように化合物 **5** は、**1** および **2** の類縁体の逆のキラリティーを持った単量体同士がカップリングにより生成しているような天然物であり、このことは、**1** および **2** (あるいはまだ見つかっていない別の pericosine) も自然界において両エナンチオマーが存在する可能性を示唆している。¹¹⁾ したがって、天然型の対掌体である (-)-**2** の合成も非常に重要な意義を持つはずである。そこで、著者らは、前述の **4** の合成経路をそのまま用い、反応溶媒としてメタノールを用いれば、(-)-**2** の合成中間体となる α -6-methoxy 体 **25** を与えるのではないかと考えた。実際の合成を Chart 4 に示した。エポキシド混合物をメタノールに溶かしたものに、触媒量の塩化水素を作用させると、目的の α -6-methoxy 体を主生成物 **25** (54%) として、副生成物 **21** (1%), **26** (1%) とともに与えた。生成した **25** を Dess-Martin 酸化し、エノン **27** と

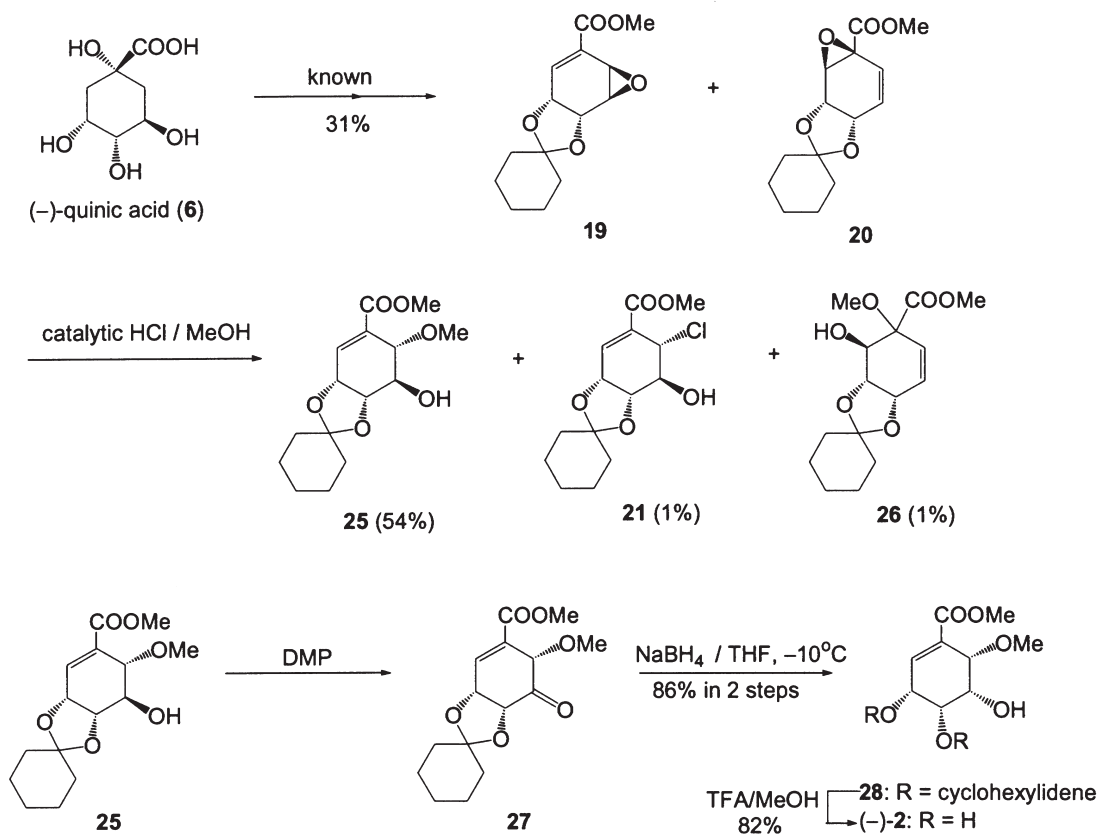


Chart 4 Synthesis of (-)-pericosine B (**2**)

した後、単離することなく NaBH_4 を用いて立体選択的に還元し、望む立体化学を有する最終中間体 **28** を与えた。その後、メタノール中、TFA を作用させることによって脱保護し、(-)-**2** の全合成を完成した。本全合成は、出発物質であるキナ酸 (**6**) より 9 工程、総収率 12% であった。

4. Pericosine 類の生物学的活性評価¹⁹⁾

合成された pericosine 類および関連化合物は、3 種類のヒト・がん細胞 A549 (肺がん, lung), HCT-8 (回盲部, ileocecal), SCF-7 (乳がん, breast) に対する *in vitro* 細胞毒性試験に付された

が実験結果は論文として未発表であるので、本稿ではごく簡単に触れることさせていただく。天然物の P388 マウスリンパ性白血病細胞に対する細胞毒性についてはすでに沼田らによって報告されているが、今回の検討ではそれと概ね平行な結果となった。Pericosine A は、以前の著者らによる研究で合成された対掌体も含めて両エナンチオマーがヒト・がん細胞に対して有意な細胞毒性を示した。この結果は、2007 年の沼田らの報告を支持している。¹⁾ それ以外の非天然型の (-)-**2** を含むこれまでに試験に付した化合物は、有意な活性を示さなかった。今後、天然型 (+)-**2** の合成を検討し、そのヒト・がん細胞に対する活性につい

て検討したい。

それ以外の活性についても今後検討していく予定である。

おわりに

今回、抗がん薬あるいは抗ウイルス薬の開発に繋がる活性を有する有機天然化合物である pericosine A および C のより効率的な合成法を開発することに成功したことは、有機合成化学あるいは創薬化学の面において窮めて意義深いものであると考えられる。また、pericosine D の合成によって、未知であった絶対配置を明らかにすることができた。さらに (-)-pericosine B の合成にも成功した。現在、海外の研究者の協力を得て、合成された化合物の生物学的活性の評価について検討中であり、ある程度の結果を得ているが、論文としては未発表であるので、詳しい内容は今回割愛させていただいた。また、pericosine D の研究過程で判明したもともと pericosine D として報告されていた化合物を別に pericosine D₀ と名付け、現在その相対・絶対構造についても検討中である。²⁰⁾ 更に、本稿の中で簡単に紹介した pericosine 類にまつわるキラリティーの謎の解明についても今後検討予定であり、本研究が更なる発展を遂げることができるようになりたい。

謝辞 本研究は、平成 19 年度大阪薬科大学同窓会研究助成による課題研究であることをここに記し、大阪薬科大学同窓会の皆様に心より感謝の意を表します。本論文に示された研究は、大阪薬科大学・有機分子機能化学研究室において行われたものであり、共同研究者である有本正生元准教授、市川隼人元助教（現・日本大学生産工学部助教）、並びに大学院博士前期課程修了生・水木晃治修士（現・藤本製薬研究員）、学部卒業生・大杉茉莉恵、満田敦子、鈴木健太郎、坂本絵美の各

学士に感謝いたします。NMR, MS の測定の労を取られ、いつも研究をバックアップしていただいている 本学・共同機器センターの箕浦克彦博士、藤嶽美穂代先生、並びに pericosine 類について貴重なサンプルの提供とご助言をいただいた本学・医薬品化学研究室・山田剛司博士に深謝します。さらに、生理活性試験を担当いただいている米国・ノースカロライナ大学チャペルヒル校薬学部 Kuo-Hsiung Lee（李 國雄）教授、Kenneth F. Bastow 准教授、並びに有意義な御助言を頂いた香港中文大学・Tony K. M. Shing（成 公明）教授にもこの場をお借りして厚く御礼申し上げます。

REFERENCES

- 1) Yamada, T.; Iritani, M.; Ohishi, H.; Tanaka, K.; Doi, M.; Minoura, K.; Numata, A., *Org. Biomol. Chem.*, **5**, 3979–3986 (2007).
- 2) Arjona, Odon; Gomez, Ana M.; Lopez, J. Cristobal; Plumet, J., *Chem. Rev.* **107**, 1919–2036 (2007).
- 3) Usami, Y., *Bull. Osaka Univ. Pharm. Sci.*, **2**, 91–102 (2008).
- 4) Numata, A.; Iritani, M.; Yamada, T.; Minoura, K.; Matsumura, E.; Yamori, T.; and Tsuruo, T., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 8215–8218 (1997).
- 5) Usami, Y.; Ueda, Y., *Chem. Lett.*, **34**, 1062–1063 (2005).
- 6) Usami, Y.; Ueda, Y., *Synthesis*, 3219–3225 (2007).
- 7) Usami, Y.; Horibe, Y.; Takaoka, I.; Ichikawa, H.; Arimoto M., *Synlett*, 1598–1600 (2006).
- 8) Usami, Y.; Takaoka, I.; Ichikawa, H.; Horibe, Y.; Tomiyama, S.; Ohtsuka, M.; Imanishi, Y.; Arimoto, M., *J. Org. Chem.*, **72**, 6127–6134 (2007).
- 9) Usami, Y.; Ohsugi, M.; Mizuki, K.; Ichikawa, H.; Arimoto M., *Org. Lett.*, **11**, 2699–2701 (2009).
- 10) Usami, Y.; Hatsuno, C.; Yamamoto, H.; Tanabe, M.; Numata, A., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 1130–1133 (2004). (*Erratum: Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 721 (2005).
- 11) Usami, Y.; Ichikawa, H.; Arimoto M., *Int. J. Mol. Sci.*,

- 401–421 (2008).
- 12) Kawabata, T.; Matsuda, S.; Kawakami, S.; Monguchi, D.; Moriyama, K., *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 15394–15395 (2006).
 - 13) Stymiest, J. K.; Bagutski, V.; French, R. M.; Aggarwal, V. K., *Nature*, **456**, 778–782 (2008).
 - 14) Tanaka, T.; Hayashi, M., *Synthesis*, 3361–3376 (2008).
 - 15) Usami, Y.; Mizuki, K.; Ichikawa, H.; Arimoto M., *Tetrahedron: Asymmetry*, **19**, 1461–1464 (2008).
 - 16) Huntly, C. F. M.; Wood, H. B.; Ganem, B., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 2031–2034 (2001).
 - 17) Usami, Y.; Suzuki, K.; Mizuki, K.; Ichikawa, H.; Arimoto M., *Org. Biomol. Chem.*, **7**, 315–318 (2009).
 - 18) Donohoe, T. J.; Blades, K.; Helliwell, M.; Waring, M. J.; Newcombe, N. J., *Tetrahedron Lett.*, **39**, 8755–8758 (1998).
 - 19) Unpublished results.
 - 20) Usami, Y., *Mar. Drugs*, **9**, 314–330 (2009).