

博士論文

**Development of novel methods for
the synthesis of natural and unnatural polyketides
based on the biomimetic iterative strategy**

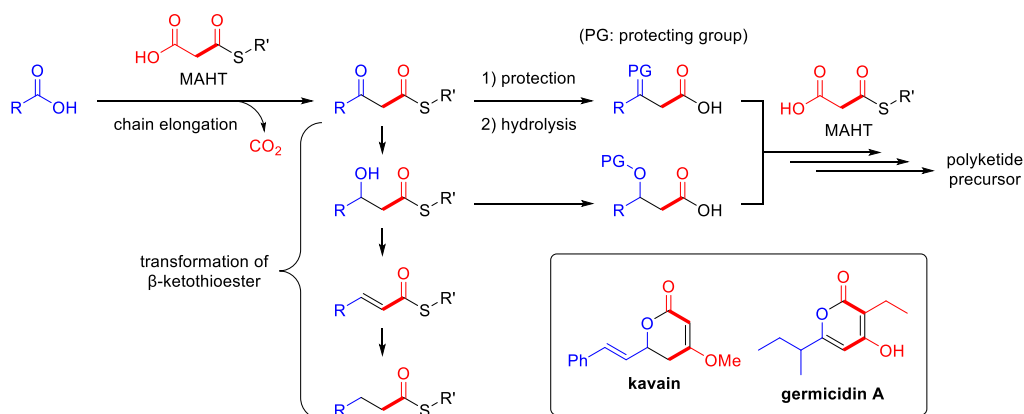
(生体模倣合成法を基盤とした
天然及び非天然ポリケチドの新規合成手法の開発)

竹内 優太

1. 緒言

ポリケチドは細菌や植物が産生する二次代謝産物であり、多様な構造をもつことで知られている。また、様々な生物活性を有することから医薬品として利用されているものも多い。生合成では出発ユニットであるアシル CoA に対し、伸長ユニットであるマロニル CoA または α 置換マロニル CoA が脱炭酸を伴うクライゼン反応により縮合することで炭素鎖が伸長される。ここで生じた β -ケト基は還元、脱水、水素化と段階的に官能基変換を受けるが、どの状態で次の炭素鎖伸長に移行するかには4つの選択肢があり、これがポリケチドの多様性を生み出している。このようにして形成された鎖状化合物は、環化や修飾を経て最終生成物に変換される。

当研究室ではこれまでに、この生合成機構に着目したポリケチドの生体模倣合成法の開発を報告している⁽¹⁾。この手法ではカルボン酸を出発ユニットとし、マロニル CoA の模倣化合物であるマロン酸ハーフチオエステル (MAHT) を用いた脱炭酸を伴う脱水縮合により炭素鎖を伸長する (Scheme 1)。生合成と同様に得られた β -ケト基の官能基変換を行った後、保護基の導入とチオエステルの加水分解によりカルボン酸を露出させ、次の炭素鎖伸長を行う。これを繰り返して合成した鎖状化合物の環化と修飾を行うことで、目的のポリケチドが得られる。このように、生体模倣合成法では限られた種類の基質と反応の組み合わせにより、多様なポリケチドを統一的に合成できるという利点がある。



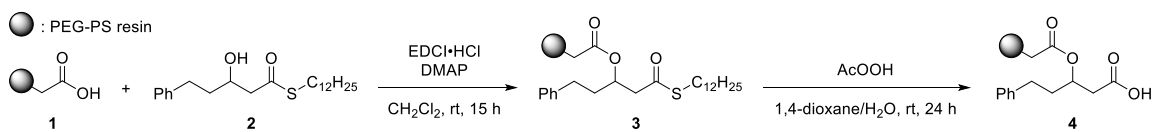
Scheme 1. ポリケチドの生体模倣合成法

この手法は逐次的な炭素骨格の構築と β -ケト基の多様化を軸とすることで、広範なポリケチド化合物の合成に適用できる可能性をもっている。一方で、精製ステップの煩雑さや、非天然ポリケチド合成への適用、保護基の不足による伸長回数の制限といった課題が残されている。そこで、本研究では新たな概念を取り入れた新規合成手法として、1) 固相合成法、2) 含窒素ポリケチド合成法、3) 収束的合成法について開発を行った。これらの手法を確立することによって従来の課題を解決し、生体模倣合成法を実用的で広く利用可能なツールとして発展させることを目指した。

2. ポリケチドの固相合成法の開発¹⁾

当研究室の生体模倣合成法は炭素鎖伸長のたびに官能基変換と保護基の導入を適宜行うため、合成に要するステップ数が比較的多くなり、クロマトグラフィーによる精製に時間と労力を要するという欠点があった。これを克服するため、本手法への固相合成法の適用を検討した。

まず、末端がカルボキシ基で修飾された PEG-PS 樹脂 **1** を固相担体として用い、ヒドロキシ基をもつ基質 **2** をエステル形成により担持した (Scheme 2)。得られた樹脂固定化チオエステル **3** は過酢酸を用いた酸化条件によりエステル存在下で選択的に加水分解し、樹脂固定化カルボン酸 **4** を得た。また、基質担持の進行を簡便にチェックするため、固相担体上のカルボキシ基の検出に用いられるマラカイトグリーンを利用したカラーテスト²⁾を検討したところ、樹脂 **1** は青緑色に着色したのに対し、樹脂 **3** には着色が見られなかった (Figure 1)。このことからカルボキシ基は完全に消費されており、基質の導入をカラーテストにより確認することが可能であることがわかった。



Scheme 2. 基質の担持と樹脂固定化チオエステルの加水分解

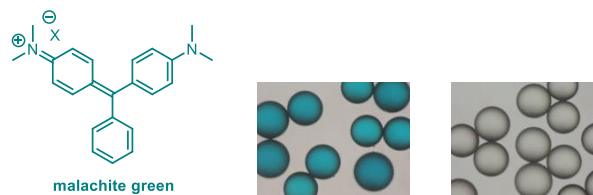


Figure 1. マラカイトグリーンの構造とカラーテスト後の樹脂 (写真左: 樹脂 **1**, 写真右: 樹脂 **3**)

さらに、樹脂の ¹³C NMR スペクトル測定を行い、Scheme 2 の反応のモニタリングを行った (Figure 2)。樹脂 **1** のスペクトル (A) ではカルボキシ炭素およびリンカー部分のアミド炭素のピークが確認された (*a, b*)。基質担持後の樹脂 **3** のスペクトル (B) ではエステルおよびアミド炭素 (*d, e*) に加え、196 ppm にチオエステル炭素のピークが出現した (*c*)。一方で、加水分解後の樹脂 **4** のスペクトル (C) ではこのピークは消失しており、チオエステルが完全に消費されていることが示された。カルボン酸、アミド、エステルの炭素は 172 ppm にまとまって観測された (*f*)。このように ¹³C NMR を用いることで構造情報が得られ、反応生成物を樹脂から切り離さずに確認することができた。

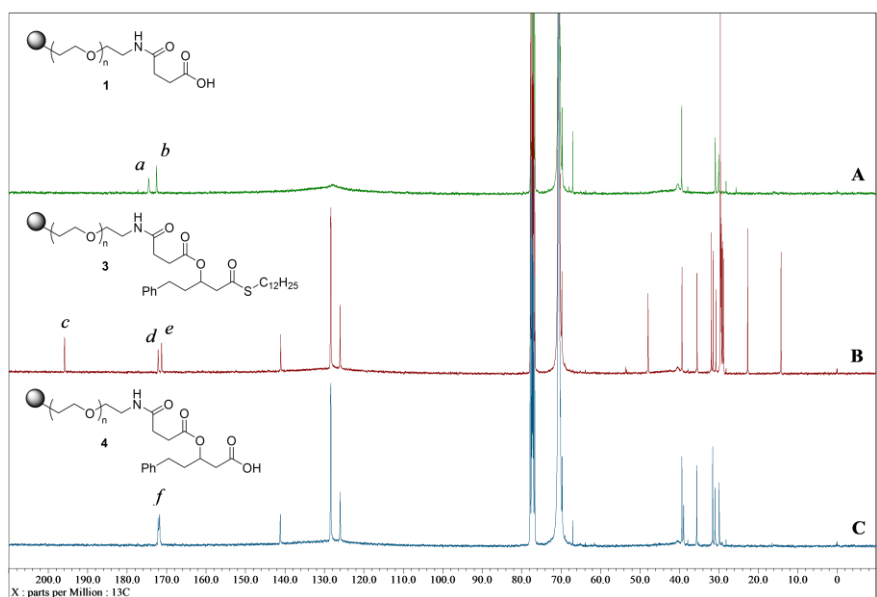
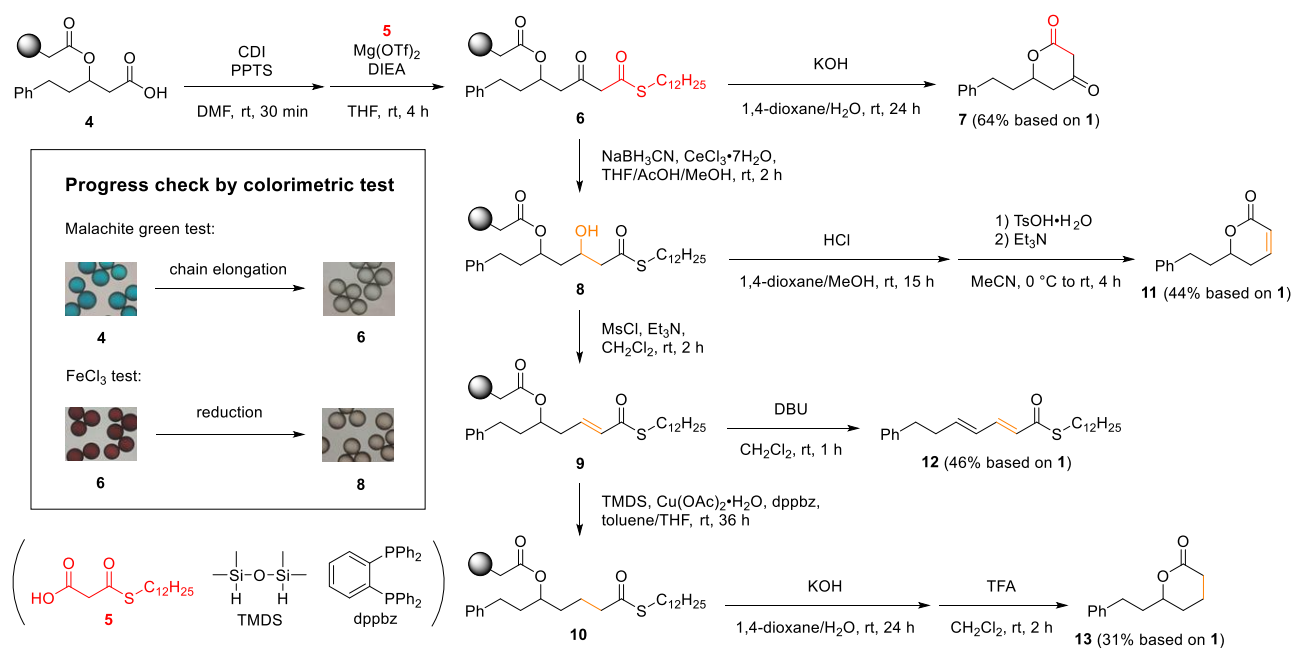


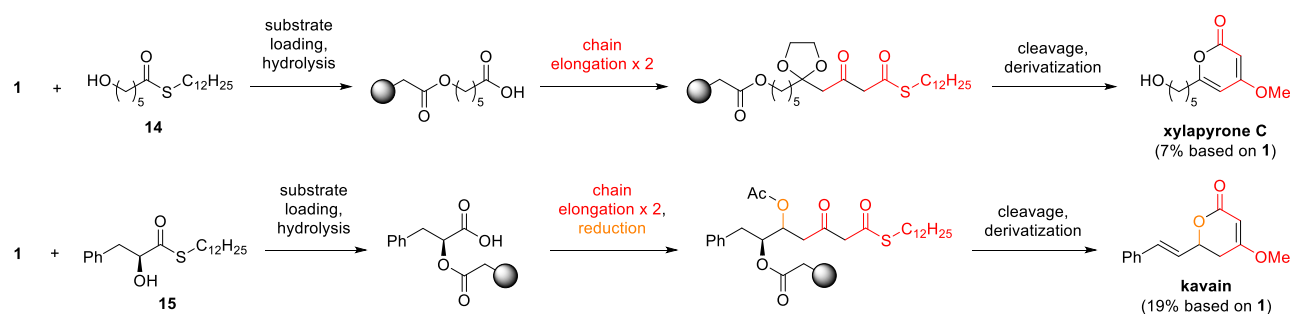
Figure 2. 樹脂 **1**, **3**, および **4** の ¹³C NMR スペクトル

次に、樹脂に固定化したカルボン酸の炭素鎖伸長と β -ケト基の官能基変換を行った (Scheme 3)。検討を行った結果、CDIとPPTSを用いてカルボン酸の活性化を行い、樹脂を洗浄した後に $\text{Mg}(\text{OTf})_2$ を用いて調製したMAHT **5**のマグネシウム塩を加える条件が最適であることがわかった。伸長後のKOHによる切り離しと環化によりラクトン**7**が樹脂**1**を基準として64%の収率で得られ、各ステップが高収率で進行していることが確認された。また、樹脂**6**の β -ケト基を NaBH_3CN により還元し、続いて $\text{MsCl}/\text{Et}_3\text{N}$ による脱水、 $[\text{Cu}]/\text{TMS}$ による水素化と段階的に変換した。各ステップにおいて適切な条件で切り離しと誘導化を行ったところ、それぞれ化合物**11**, **12**, および**13**が得られ、官能基変換も効率よく進行していることがわかった。なお、マラカイトグリーンを用いたカラーテストは炭素鎖伸長の反応チェックにも有効であり、原料であるカルボン酸が消費されていることが確認できた。また、 FeCl_3 を用いた β -ケト基の検出⁽³⁾を利用し、還元反応の終点をモニタリングすることも可能となった。



Scheme 3. 炭素鎖伸長と β -ケト基の官能基変換

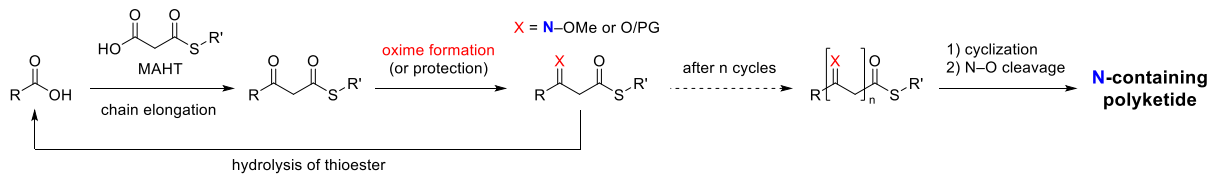
最後に、本手法を天然物合成に応用した (Scheme 4)。基質**14**を樹脂**1**に担持し、炭素鎖伸長を2回行った後に切り離しと誘導化を行うことでピロン環をもつ xylapyrone C が得られた。また、基質**15**を用いて炭素鎖伸長2回と還元1回を行うと、鎮痙作用をもつ kavain を合成することができた。さらに、この還元を不斉触媒により立体選択的に行うことで、(R)-kavain を不斉合成することにも成功した。



Scheme 4. 天然ポリケチドの固相合成

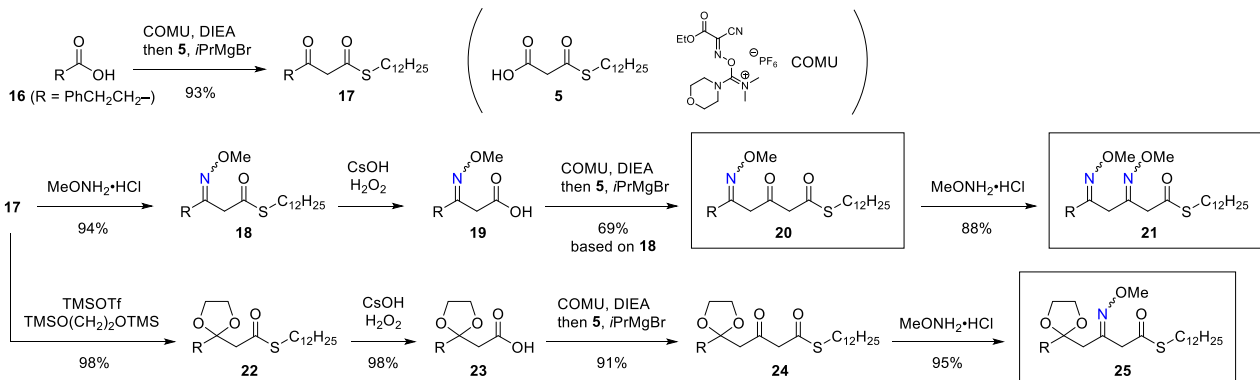
3. 含窒素ポリケチド合成法の開発^[2]

天然化合物には窒素官能基を含むものが多く知られているが、一部のポリケチドにも窒素原子を有するものが存在する。また、ポリケチドの一部を窒素原子で置き換えた非天然ポリケチドは有用な薬理活性を示すことがあり、医薬品の候補化合物となりうる⁽⁴⁾。そこで、当研究室の生体模倣合成法に窒素原子を導入するステップを組み込めれば、このような含窒素ポリケチドの汎用的な合成法が開発できると考えた。具体的には、炭素鎖伸長で生じるβ-ケト基を適宜 *O*-メチルオキシムに変換し、得られたオキシム中間体の環化と N-O 結合の切断を行うことができれば目的物を得ることが可能である (Scheme 5)。



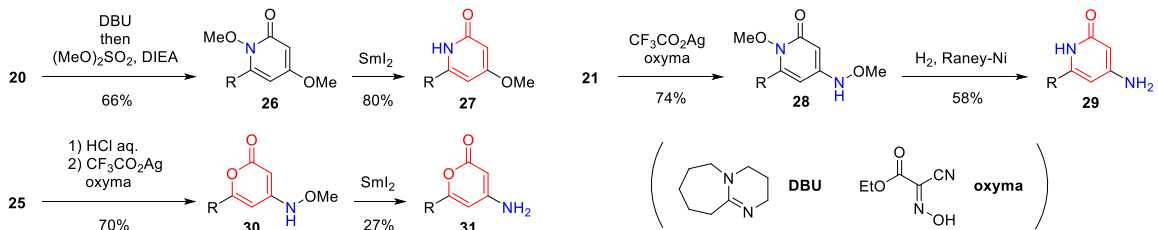
Scheme 5. 生体模倣合成法を応用した含窒素ポリケチド合成

はじめに、*O*-メチルオキシムを含む鎖状トリケチド化合物の合成を行った (Scheme 6)。炭素鎖伸長とチオエステルの加水分解は先行研究に倣い、オキシム化はβ-ケトチオエステルに *O*-メチルヒドロキシルアミン塩酸塩を縮合させることにより高収率で進行した。これらの反応を組み合わせることで、オキシムの位置が異なる一連の環化前駆体 **20**, **21**, および **25** が得られた。



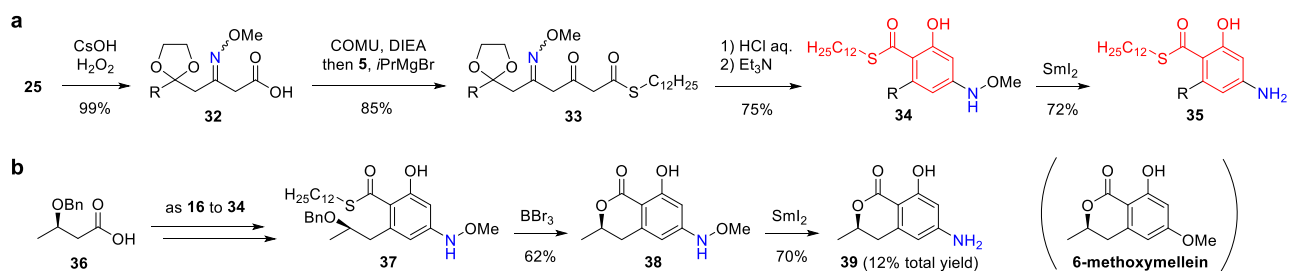
Scheme 6. 含オキシム鎖状トリケチド化合物の合成

次に、オキシム中間体の環化を行った (Scheme 7)。化合物 **20** は強塩基である DBU で環化が進行し、SmI₂ を用いることで N-O 結合が還元的に切断されてピリドン **27** を与えた。**21** の環化にも **20** と同様の条件を適用したが、環化体は得られなかった。検討を行ったところ、CF₃CO₂Ag でチオエステルを活性化することで環化が進行し、ラネーニッケルを用いた還元によりピリドン **29** を得た。**25** については **21** の環化条件と **26** の N-O 開裂条件をそれぞれ適用することでアミノピロン **31** が得られた。



Scheme 7. オキシム中間体の環化と N-O 結合の切断

さらに、**25** から3回目の炭素鎖伸長を行うことで鎖状テトラケチド **33** を合成した (Scheme 8, a)。ジオキサランの加水分解後に塩基を作用させると分子内アルドール縮合により環化が進行し, SmI_2 で4-アミノサリチル酸チオエステル **35** に誘導することができた。最後に, 本手法を用いて天然ポリケチドの酸素官能基をアミノ基で置き換えた非天然ポリケチドの合成を行った (Scheme 8, b)。光学活性なカルボン酸 **36** を出発物質とし, **34** と同様の骨格を構築して **37** を得た。 BBr_3 を用いるとベンジル基の脱保護とラクトン化が進行し, N-O結合の還元により抗菌性をもつことで知られる 6-methoxymellein の窒素類縁体 **39** が得られた。



Scheme 8. (a) 含オキシム鎖状テトラケチドの合成および誘導化, (b) (R)-4-aminomellein の合成

4. ポリケチドの収束的合成法の開発^[3]

生体模倣合成法では炭素鎖伸長後にケト基が生成するため, 高い酸化度をもつポリケトン鎖を効率的に得ることができ, 芳香族ポリケチドの合成に有用である。しかし, 本手法に用いることができるケトンの保護基は限られており, 多くの伸長が必要な複数の環をもつ化合物の合成は難しかった。これを解決するため, 環化前駆体のポリケトン鎖をいくつかのフラグメントに分けて合成し, それらを終盤につなぎ合わせる収束的合成法の確立を行った。

合成計画を Figure 3 に示す。カルボン酸およびマロン酸ハーフエステルを出発物質として用い, 生体模倣合成法により炭素鎖伸長を行う。適切な長さのフラグメントが得られたら, それぞれを加水分解および脱保護により β -ケト酸とカルボン酸に変換する。ここで脱炭酸を伴う脱水縮合によりフラグメントのカップリングを行い, 得られた鎖状化合物の環化と修飾により目的物を得る。

本手法を用いて縮環構造をもつ芳香族ポリケチドである noreugenin の合成を行った。まず, 酢酸およびマロン酸モノ(9-フルオレニルメチル) **44** をそれぞれ出発物質とし, 2つのフラグメントを合成した (Scheme 9)。酢酸は2回伸長反応を行い, 1つ目のケト基はジチオランとして保護し, フラグメント **43** を合成した。また, **44** は伸長反応を1回を行い, 生じたケト基をジオキサランで保護することでフラグメント **46** を得た。

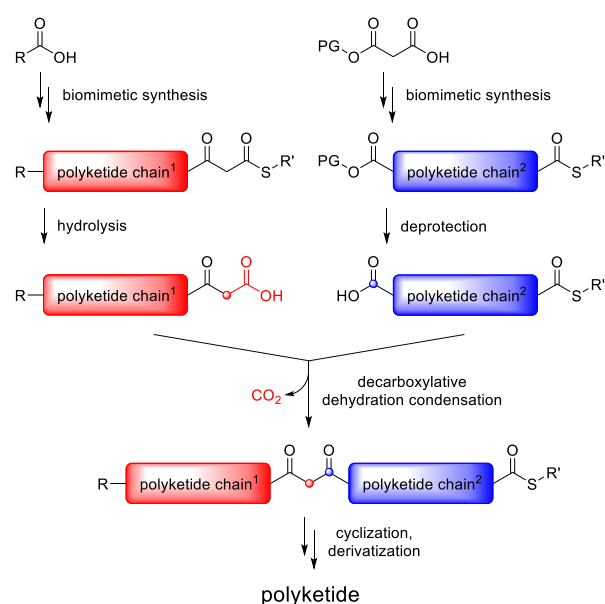
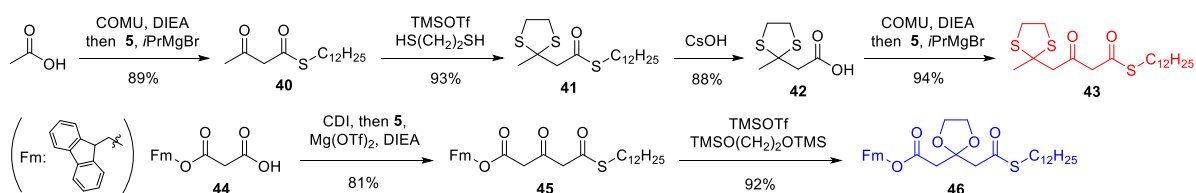
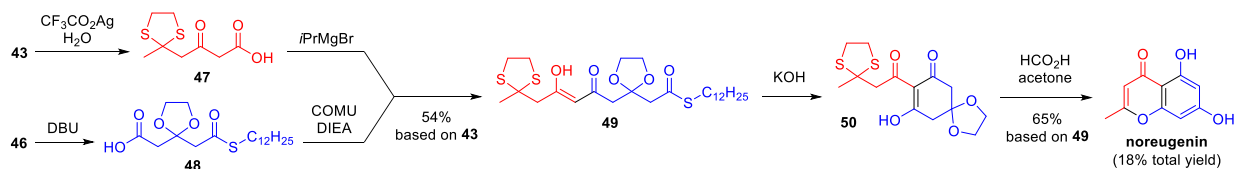


Figure 3. 生体模倣合成法を応用した収束的ポリケチド合成



Scheme 9. フラグメント 43 と 46 の合成

次に、合成したフラグメントのカップリングと環化を行った (Scheme 10)。43 は CF₃CO₂Ag 存在下でチオエステルを加水分解することにより β-ケト酸 47 に変換し、46 は DBU を作用させることで 9-フルオレニルメチル基の脱保護を行いカルボン酸 48 とした。47 にグリニャール試薬を加えてマグネシウム塩を調製し、ここへ 48 を COMU で活性化したものを加えるとカップリング体 49 が得られた。最後にこれを KOH で環化させ、得られた 50 に対してギ酸を加えることでジオキソランおよびジチオランの脱保護を伴って芳香族化と環化が進行し、noreugenin が得られた。



Scheme 10. フラグメントのカップリングと noreugenin への誘導化

5. 結言

本研究では、生体模倣合成法を基盤とした新規ポリケチド合成法の開発を行った。1 つ目に、固相合成法を適用することで精製操作の煩雑さを克服した。本法は単純なプロトコルの繰り返しで鎖状中間体を合成できることから、より簡便かつ迅速にポリケチドを合成することが可能である。2 つ目に、窒素原子導入のステップを含む反応サイクルにより鎖状オキシム化合物を合成し、その環化と還元により多様な構造の含窒素ポリケチドが合成できることを示した。これにより窒素類縁体といった非天然ポリケチドの合成が可能になり、新規生理活性物質の探索への応用が期待できる。最後に、収束的合成法を取り入れることでより長い鎖状中間体を経るポリケチドが合成可能になった。特に、適切に保護基を導入したポリケトン鎖は他の方法では合成が難しく、多環式芳香族ポリケチドの合成に有用である。

以上により生体模倣合成法が実用的な手法となり、非天然ポリケチドを含むより広範な化合物の合成に適用することが可能となった。今後、創薬などの研究領域において、汎用的なポリケチド合成法として利用されることを期待している。

6. 参考文献

- (1) Akagawa, K.; Kudo, K. *Chem. Commun.* **2017**, 53, 8645–8648; Akagawa, K.; Kudo, K. *J. Org. Chem.* **2018**, 83, 4279–4285. (2) Attardi, M. E. *et al. Tetrahedron Lett.* **2000**, 41, 7391–7394. (3) Porcheddu, A. *et al. J. Comb. Chem.* **2004**, 6, 105–111. (4) Shen, Y. *et al. Bioorganic Med. Chem. Lett.* **2010**, 20, 3155–3157.

7. 発表論文

- [1] Takeuchi, Y.; Akagawa, K.; Kudo, K. Solid-Phase Biomimetic Synthesis of Polyketide, *J. Org. Chem.*, *accepted*.
- [2] Takeuchi, Y.; Kawasaki, S.; Akagawa, K.; Kudo, K. *In preparation*.
- [3] Takeuchi, Y.; Akagawa, K.; Kudo, K. *In preparation*.