

博士論文 (要約)

立体化学の訂正を目的とした **Glabramycin B** の合成

山本 将起

本論文の一部の内容は、学術雑誌に投稿予定であり公開することができない。(5年以内に出版予定)

# 立体化学の訂正を目的とした Glabramycin B の合成

東京大学大学院農学生命科学研究科

応用生命化学専攻博士課程

平成 25 年度進学 山本 将起

指導教員

東京大学大学院農学生命科学研究科

教授 渡邊 秀典

## 目次

略語表	1
序論	5
本論	
第 1 章 背景	
1.1. Glabramycin A-C の単離及び相対立体配置の決定	10
1.2. Glabramycin B の類縁化合物	11

第 1 章の後半部分以降の内容は、学術雑誌に投稿予定であるため公表できない(5 年以内に出版予定)。

## 略語表

Ac	acetyl
<i>aq.</i>	<i>aqueous</i>
Avg.	average
ben.	benzene
br	broad
Bu	butyl
bypro.	byproduct
cat.	catalyst
calcd.	calculated
18-c-6	18-crown 6-ether
COD	cyclooctadiene
d	doublet
dba	dibenzylideneacetone
DCC	dicyclohexylcarbodiimide
dd	double doublet
ddd	double double doublet
ddq	double double quartet
ddt	double double triplet
d.e.	diastereomeric excess
decomp.	decomposition
DFT	density functional theory
DIBAL	diisobutylaluminium hydride
dil.	diluted
DMAP	4-( <i>N,N</i> -dimethylamino)pyridine

DME	1,2-dimethoxyethane
DMSO	dimethyl sulfoxide
dppb	1,4-bis(diphenylphosphino)butane
dppf	1,1'-bis(diphenylphosphino)ferrocene
dt	double triplet
e.e.	enantiomeric excess
eq.	equivalent
ESI	electrospray ionization
Et	ethyl
HPLC	high performance liquid chromatography
HMPA	hexamethylphosphoric triamide
imid.	imidazole
KHMDS	potassium bis(trimethylsilyl)amide
LAH	lithium aluminium hydride
LDA	lithium diisopropylamide
LHMDS	lithium bis(trimethylsilyl)amide
lut.	lutidine
m	multiplet
<i>m-</i>	<i>meta</i>
Max.	maximum
<i>m</i> -CPBA	<i>m</i> -chloroperbenzoic acid
Me	methyl
MIDA	<i>N</i> -methyliminodiacetic acid
min.	minute
MNBA	2-methyl-6-nitrobenzoic anhydride
MOM	methoxymethyl

MRSA	methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i>
Ms	methanesulfonyl
MS	mass spectrometry
MS4Å	molecular sieves 4Å
MTPA	$\alpha$ -methoxy- $\alpha$ -(trifluoromethyl)phenylacetyl
<i>n</i> -	<i>normal</i>
N.R.	no reaction
NOE	nuclear Overhouser effect
NBS	<i>N</i> -bromosuccinimide
NMO	4-methylmorpholine <i>N</i> -oxide
NMR	nuclear magnetic resonanse
oxi.	oxidation
o.n.	overnight
<i>p</i> -	<i>para</i>
PCC	pyridinium chlorochromate
PEPPSI	pyridine enhanced precatalyst preparation stabilization and initiation
Ph	phenyl
ppm	parts per million
PPTS	pyridinium <i>p</i> -toluenesulfonate
pyr	pyridine
q	quartet
quant.	quantitative
recov.	recovery
red	reduction
r.t.	room temperature

s	singlet
s.m.	starting material
t	triplet
<i>t</i>	<i>tertiary</i>
TAS-F	tris(dimethylamino)sulfonium difluorotrimethylsilicate
TBAF	tetrabutylammonium fluoride
TBS	<i>tert</i> -butyldimethylsilyl
temp.	temperature
<i>tert</i>	<i>tertiary</i>
TES	triethylsilyl
Tf	trifluoromethanesulfonyl
TFA	trifluoroacetic acid
THF	tetrahydrofuran
THP	2-tetrahydropyranyl
TMS	trimethylsilyl
TMSE	2- trimethylsilylethyl
tol.	toluene
Ts	<i>p</i> -toluenesulfonyl
TS	transition state

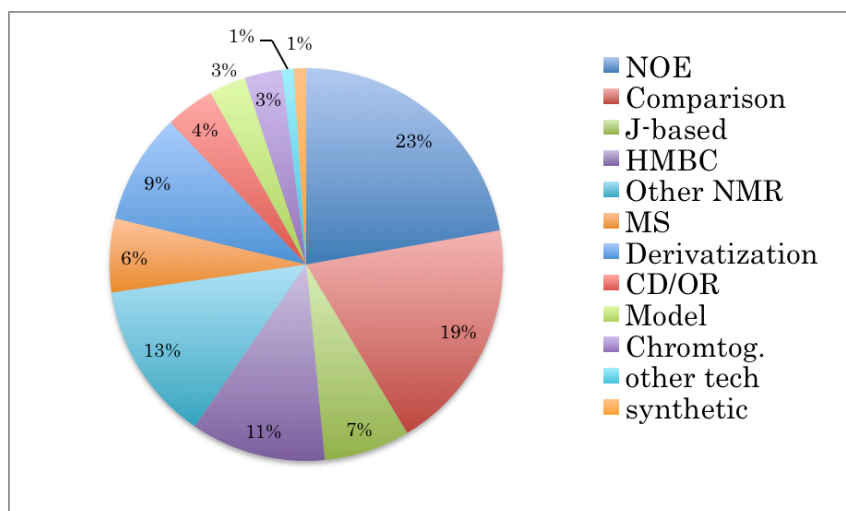


## 序論

文明の発祥以来人類は自然界で生じる様々な事象を観察・記録する中で、健康で安寧な生活を営むために有用または有害な生物活性物質を数多く見出してきた。初期の頃には、殺虫作用を示す除虫菊や鎮痛作用を示すヤナギの樹皮といった天然に存在する植物などを加工し、農薬・医薬として用いてきた。その後科学の発展に伴い、これらの中の有効成分である生物活性物質のクロマトグラフィーを用いた単離・精製や、元素分析、核磁気共鳴分光 (NMR) 法 や X 線結晶構造解析法などを用いた構造決定が行われるようになった。

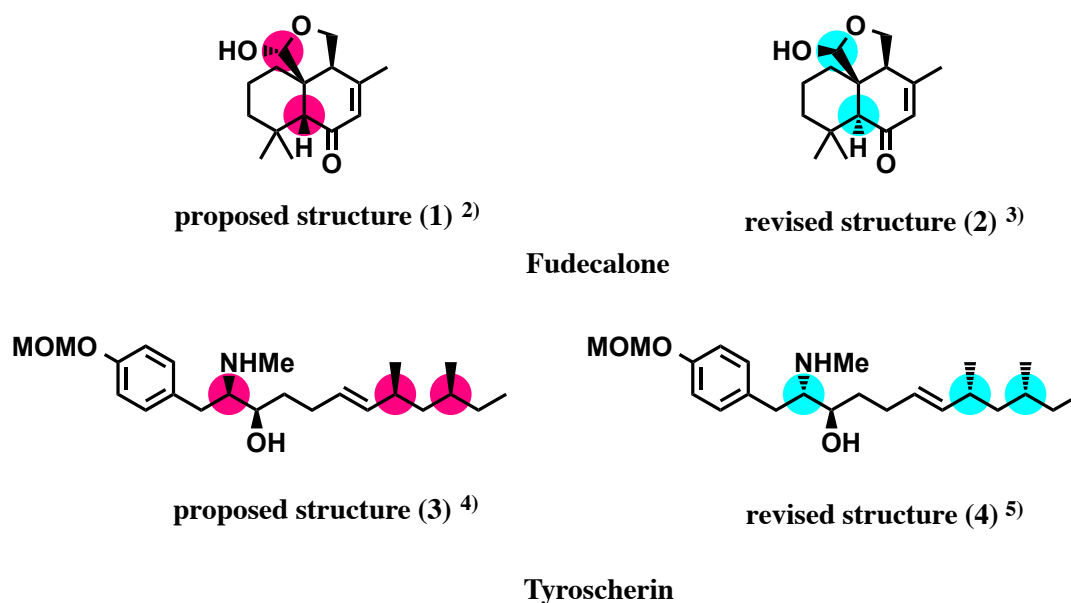
このように人類にとって非常に有用な生物活性を持つ有機化合物を数多く入手できるようになったが、有用な生物活性物質は天然からは微量しか得られない場合が多く、その立体化学を含めた構造の決定や正確な活性評価・詳細な作用機序の解明を行うことが困難である。その際、有機合成化学的手法を用いれば人工的に大量の化合物合成を行うことが可能となる。さらには合成した試料を用いれば詳細な立体化学の決定や十分な活性評価試験が行え、立体化学や活性評価を基としたより高活性な生物活性物質の創出も可能となる。こうした観点から、天然から得られてくる有用化合物のさらなる有効利用には有機合成化学は必要不可欠であると言える。

一方、かつては化合物の分解実験による生成物の構造推定とその推定構造の合成といった有機化学的手法による多大な労力のもと行われてきた天然有機化合物の構造決定も、現在では質量分析、X 線結晶構造解析や NMR を用いた分析などにより、かつてほどの労力は必要とされなくなった。しかし、機器分析による構造決定は蓄積されたデータからの経験則による推定であるため誤りを含むことも少なくない。このため推定された構造を実際に合成することにより、その構造が正しいものであるかを確認することは依然として重要である。実際に機器分析により推定された構造が誤っており、合成によりその構造を正されたという例は多い。以下にその例を示す。



**Figure 1.** 2005 年から 2010 年において構造決定の誤りの原因となった構造決定方法 <sup>1)</sup>

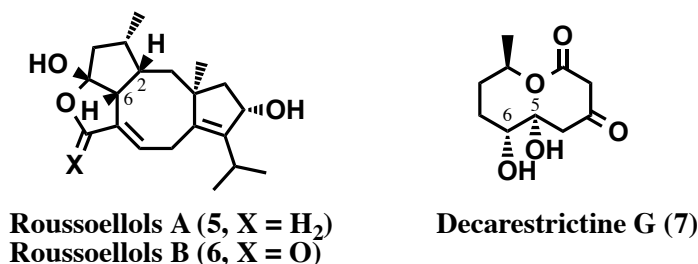
McPhail らの報告によれば、これまでに機器分析により推定された構造が誤りであった化合物は 369 例にのぼると報告されている。また、2005 年から 2010 年の 5 年間で誤りの原因となった構造決定法は NMR によるものが最も多く 73%を占めている <sup>1)</sup>。一方、合成化学的手法を用いて構造決定されたものが誤りであったものは 1%であることも報告されていることから、有機合成が構造決定において信頼性が高い手法であることがわかる。**Figure 2** に当研究室の合成研究により構造を訂正した天然生物活性物質の一例を示す。



**Figure 2.** 立体化学が訂正された化合物の一例

抗コクジウム活性を有する Fudecalone における環上の置換基の立体化学は NOE 解析により決定されており<sup>2)</sup>、また癌細胞の増殖抑制活性を有する Tyroscherin については、炭素—水素間の結合定数や類縁体とのスペクトルの比較によりその立体化学が推定されていた<sup>4)</sup>が、これらの立体化学の誤りが後の全合成により訂正されている<sup>3)5)</sup>。このように、化合物の詳細な立体化学の NMR による決定は未だ困難であり構造決定を誤る危険性が生じる。

また近年ではコンピューターの処理速度の向上や計算化学分野の発達に伴い、化合物の立体配座や NMR スペクトルの推定が容易に行えるようになった。これにより天然から得られた生物活性物質の構造決定<sup>6)</sup>や相対立体配置が不確かな化合物の合成の際の構造推定<sup>7)</sup>にこれらの計算化学的手法が用いられるようになった。以下に計算化学的手法を用いて構造が推定された化合物の一例を示す (Figure 3)。



**Figure 3.** 単離の際の構造決定や合成の際の構造推定に計算化学的手法を用いた化合物の例

Roussoellols A は構造決定の際に、H-2 と H-6 の間に NOE が観測されたものの<sup>1</sup>H-NMR における 2 位と 6 位の結合定数が 10.8 Hz と大きな値を示したことから、これらが *cis* の関係にあるか決定できなかった。そこで DFT 計算を用いて推定構造の最安定配座及び<sup>1</sup>H と<sup>13</sup>C-NMR における化学シフトの予測値を求め、これらと実測値との誤差が小さいことを根拠として 2 位と 6 位の関係が *cis* であると構造決定している。また、Decarestrictine G は、単離の際に他の類縁体とのスペクトルの比較により (5*S*,6*S*) の立体化学を有すると構造決定されていた。しかし、本化合物の合成を行った Katsuta らは 5 位と 6 位のすべての立体異性体についての DFT 計算を用いた<sup>1</sup>H と<sup>13</sup>C-NMR における化学シフトの予測を行い、実測値と最も誤差の少ない計算結果を与えた (5*R*,6*R*) の立体化学が天然物の真の構造であると推定した。また Katsuta らは (5*R*,6*R*) の立体化学を有する化合物を実際に合成し、合成品の各種スペクトルが天然物と一致したことにより

Decarestrictine G の構造訂正を行っている。

しかし計算化学的手法を用いた構造推定は、先述の例に示したように、計算結果と実測値との誤差の大小により尤もらしい構造を推定しているに過ぎないため、化合物の構造決定においては補助的手段にとどまっている。

以上のことから、化合物の全合成はその詳細な立体化学の決定や確認を行ううえで非常に有用で確実な方法であるといえる。

また、有用な生物活性を示す化合物はその分子内に不斉炭素を有する光学活性なものが数多く存在し、その立体化学の違いにより異なる生物活性を示すことがある。このため、これまで多くの光学活性化合物の合成法が開発されてきた。これらは主に次の三手法に分類される。すなわち、I) 光学分割法 II) 不斉合成法 III) キラルプール法である。以下に各手法の概要を示す。

#### I) 光学分割法

本手法は、ラセミ体の化合物に光学的に純粋な化合物を結合させ、それぞれをジアステレオマーとすることによりクロマトグラフィーや結晶化により分離を行う方法である。本手法は出発原料がラセミ体でよいので合成経路を自由に設定できる点において優れているが、原理的に光学活性体の収率が最大でも 50%を超えないという欠点がある。

#### II) 不斉合成法

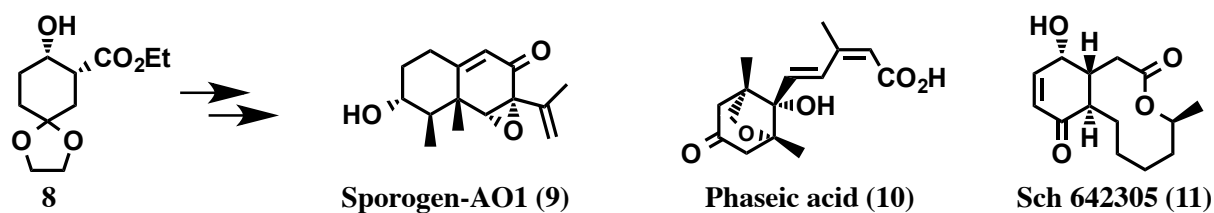
本手法は不斉触媒または不斉補助基を用いて不斉な反応場を構築し、反応により不斉点を構築する方法である。本手法は反応により望む異性体のみを合成できるという点で優れているが、不斉触媒には反応や基質にあわせた触媒設計が必要になる点や触媒合成に多段階の反応が必要となる可能性あるという欠点がある。不斉補助基には脱着が必要になる点や生成物の光学純度が高くない場合があるという欠点がある。

#### III) キラルプール法

本手法は容易かつ大量に入手可能な光学活性体を原料として用い、これらの持つ不斉炭素を目的物に取り入れる方法である。本手法は天然物などの光学純度の高い化合物を出発物質として用いるので、目的物を高い光学純度で得られるという点で優れているが、出発物質が限定されるため目的物を得る為の工程数が増加するという欠点がある。

このように、光学活性な化合物の合成には様々な手法が用いられるが、いずれも利点と欠点を有するため合成目的に応じてこれらの方法を適切に組み合わせて化合物の合成を行うことが肝要であると言える。

当研究室では、パン酵母を用いた立体選択的な還元により大量かつ高光学純度で供給が可能なキラルビルディングブロックであるβ-ヒドロキシエステル **8** を出発原料として以下のような光学活性な天然物の合成を行ってきた (**Figure 4**)<sup>8)a,b,c</sup>。



**Figure 4.** 当研究室でキラルビルディングブロック **8** を用いて合成された化合物

このような、様々な骨格を有する化合物をβ-ヒドロキシエステル **8** より合成することにより、本化合物がキラルビルディングブロックとして有用であることが示されてきた。

筆者は、より複雑な構造を有する化合物の合成においても、キラルビルディングブロック **8** を用いたキラルプール法による合成の有用性と構造決定における有機合成の有用性を示すため、機器分析による構造推定に誤りがあると考えられた Glabramycin B の立体化学の訂正を目的とした合成研究を行った。その結果、キラルビルディングブロック **8** を出発原料とした合成研究により Glabramycin B の真の構造が決定できたのでその詳細について本論文にて報告する。

## 第1章 背景

## 1.1. Glabramycin A-C の単離及び相対立体配置の決定

2009年にメルク社の Singh らは、カビの一種 *Neosartorya glabra* の培養液からリボソームタンパク質 S4 を標的としたスクリーニングにより、ポリケチドである Glabramycin A-C を単離した<sup>9)</sup>。Glabramycin A-C は黄色ブドウ球菌に対してタンパク質合成を阻害するだけでなく RNA 合成も阻害するなど、その詳細な作用機序は未だ不明であると報告されている。これらの中で最も多く生産されていた Glabramycin A (12) の平面構造は一次元及び二次元 NMR を基に、フェノールの2、3位に接続した十員環ラクトン構造及びE 体のトリエンカルボン酸側鎖を有すると決定されている。また、Glabramycin B (13) の平面構造は Glabramycin A (12) との各種 NMR データの比較により、飽和された六員環とジヒドロフラン環を有するものと決定されている。さらに、Glabramycin C (14) の平面構造は Glabramycin B (13) の平面構造に二重結合を一つ加えた構造を有するものと決定されている。加えて、Glabramycin B の縮環部の相対立体配置は <sup>1</sup>H-NMR における C-10 位と C-11 位および C-10 位と C-15 位の隣接する水素同士の結合定数がそれぞれ 9.6 Hz であり、C-10 位の水素のピークが三重線として観測されることから Figure 5. に示すように *anti*-, *anti*-の関係の相対立体配置を有すると決定されている。また、Glabramycin C についても Glabramycin B と同様の相対立体配置を有するものと類推されている。一方、いずれの化合物においても C-20 位のメチル基の立体化学については決定されていない。

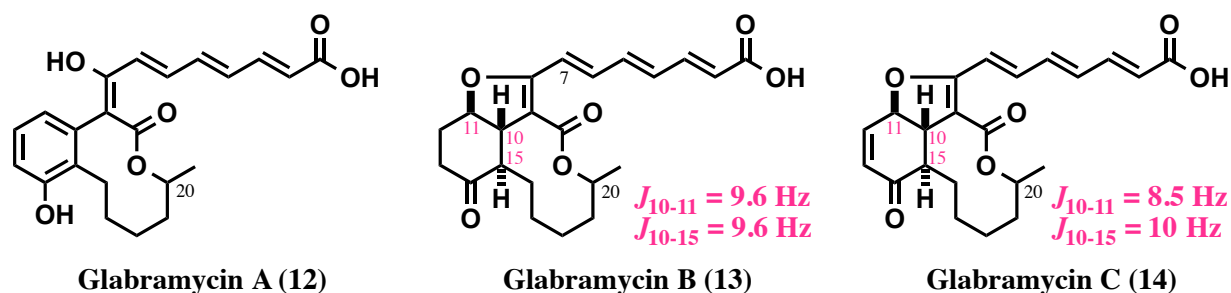


Figure 5. Glabramycin 類の構造式 (炭素番号は単離文献に従った。)

## 1.2. Glabramycin B、C の類縁化合物

Glabramycin B、C はシクロヘキサ(セ)ノン環に十員環ラクトンが縮環した骨格を有しているが、このような骨格を持つ化合物は天然には珍しく、グラム陽性菌に対する抗菌活性を有する Dictyosphaeric acid A (5)<sup>10)</sup>、分生子の自己発芽抑制活性を有する Colletofragarones A2 (4)<sup>11)</sup>及び DNA プライマーゼ阻害活性を有する Sch 642305 (6)<sup>12)</sup>の三例のみが報告されている (Figure 6)。

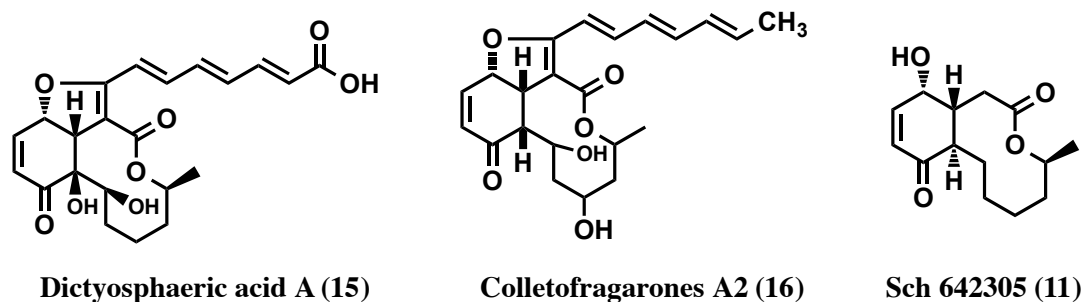


Figure 6. 類似骨格を有する化合物の構造式

このうち全合成による絶対立体配置を含めた構造決定がなされているのは Dictyosphaeric acid A<sup>13)</sup> 及び Sch 642305<sup>8)c)</sup>のみである。また、Colletofragarone A2 については合成研究は行われておらず、部分的な相対立体配置が決定されているのみである。

これ以降の内容は、学術雑誌に投稿予定であり公表できない。

また、以降の内容に A. Dermenci, Development of a Cysteine-Promoted Rauhut-Currier Reaction and Application to Natural Product Synthesis. 2011. Ph.D Thesis, Yale University.から転載した図 (表) を掲載していたが、インターネット公表に対する著作権者からの許諾が得られていないため公表できない。

以上述べた内容に関する参考文献 を載せる。

#### 参考文献

- 1) T. L. Suyama, W. H. Gerwick, K. L. McPhail, *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6675-6701.
- 2) N. Tabata, H. Tomoda, R. Masuda, Y. Iwai, S. Omura, *J. Antibiot.* **1995**, *48*, 53-58.
- 3) H. Watanabe, T. Yamaguchi, T. Furuuchi, T. Kitahara, *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 917-919.
- 4) Y. Hayakawa, T. Yamashita, T. Mori, K. Nagai, K. Shin-ya, H. Watanabe, *J. Antibiot.* **2004**, *57*, 634-638.
- 5) K. Ishigami, R. Katsuta, C. Shibata, Y. Hayakawa, H. Watanabe, T. Kitahara, *Tetrahedron* **2009**, *65*, 3629-3638.
- 6) H. Takekawa, K. Tanaka, E. Fukushi, K. Matsuo, T. Nehira, M. Hashimoto, *J. Nat. Prod.* **2013**, *76*, 1047-1051.
- 7) R. Katsuta, S. Fujikawa, A. Yajima, T. Nukada, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 3428-3432.
- 8) a) T. Kitahara, H. Kurata, K. Mori, *Tetrahedron* **1988**, *44*, 4339-4349., b) T. Kitahara, K. Touhara, H. Watanabe, K. Mori, *Tetrahedron* **1989**, *45*, 6387-6400., c) K. Ishigami, R. Katsuta, H. Watanabe, *Tetrahedron* **2006**, *62*, 2224-2230.
- 9) H. Jayasuriya, D. Zink, A. Basilio, F. Vicente, J. Collado, G. Bills, M. L. Goldman, M. Motyl, J. Huber, G. Dezeny, K. Byrne, S. B. Singh, *J. Antibiot.* **2009**, *62*, 265-269.
- 10) T. S. Bugni, J. E. Janso, R. T. Williamson, X. Feng, V. S. Bernan, M. Greenstein, G. T. Carter, W. M. Maiese, C. M. Lreland, *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1396-1399.
- 11) M. Inoue, H. Takenaka, T. Tsurushima, H. Miyagawa, T. Ueno, *Tetrahedron Lett.* **1996**, *37*, 5731-5734.
- 12) M. Chu, R. Mierzwa, L. Xu, L. He, J. Terracciano, M. Patel, V. Gullo, T. Black, W. Zhao, T.-M. Chan, A. T. McPhail, *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1527-1530.
- 13) A. R. Burns, G. D. McAllister, S. E. Shanahan, R. J. K. Taylor, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 5574-5577.