

強心性ステロイド Marinoic acid の合成研究

越智 剛敏^{*}、山口 仁宏^{**}、小西 元美^{***}、秋澤 俊史^{***}、若宮 建昭^{**}

Synthetic Study of a Cardiac Steroid, Marinoic Acid

Takanori OCHI^{*}, Yoshihiro YAMAGUCHI^{**}, Motomi KONISHI^{***}, Toshifumi AKIZAWA^{***}
and Tateaki WAKAMIYA^{**}

Marinoic acid (**1**), which is a novel bufadienolide-related substance in the skin of the giant toad (*Bufo marinus*), was isolated and the structure was determined by Akizawa *et al.* in 1996. Like bufadienolides, marinoic acid (**1**) contains an A/B ring structure in the *cis* configuration and a D/2-pyrone ring structure, but the structure of a C ring differed considerably from that of bufadienolides. Thus, marinoic acid (**1**) is an attractive synthetic target in view of the structural features as well as biological activity (Na^+ , K^+ -ATPase inhibitory activity).

Herein synthetic approach towards the marinoic acid (**1**) with deoxycholic acid (**2**) as a starting material is described.

Key words : Marinoic acid; Bufadienolide; Bufalin; Synthesis

1. 序 論

ヒキガエル(ガマ)は両生類無尾目ヒキガエル科(Bufo)に属し、地上に広く生息している。その耳下腺及び皮脂腺からの分泌物は、漢薬センソとして古くから強心利尿薬として用いられている。その成分研究は、1911年にAbelとMacht¹⁾が最初に行い、現在までにBufalin, Bufatalin, Gamabufotalin, Cinobufagin^{2, 3)}など数々の強心性ステロイド(ブホゲニン)が単離・構造決定されている(Fig. 1)。これらの化合物は、ステロイド骨格のA/B環及びC/D環が*cis*配置で、17β位に六員環不飽和ラクトン(2-ピロン環)を有し、プファジエノリドと総称される。

Marinoic acid (**1**)は1996年に秋澤らによってオオヒキガエル(*Bufo marinus*)の皮膚より単離・構造決定された強心性ステロイドである⁴⁾。この化合物は、他のプファジエノリド類とは異なりC環がラクトン環で、しかもD環とスピロ型となった極めて特異な構造を有する全く新しいタイプの類縁体で、合成有機化学的にも魅力的な化合物である。

本研究では、この新規強心性ステロイド Marinoic acid (**1**)の最初の合成を目的とした。

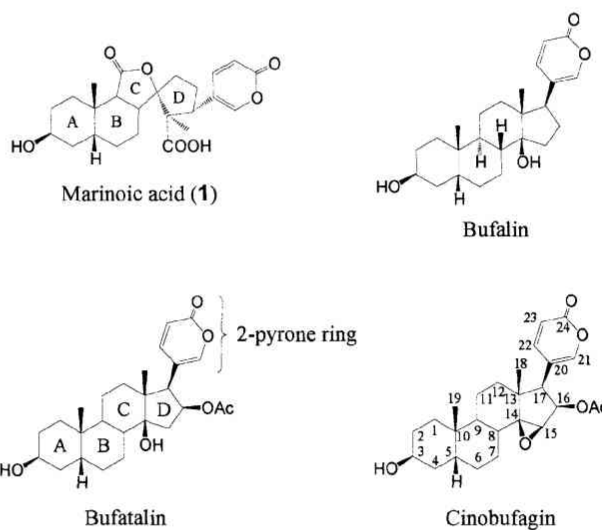


Fig. 1 Structures of bufadienolides

2. 合 成

2.1. 逆合成経路

Marinoic acid (**1**)の合成戦略としては、Scheme 1に示すようにステロイド骨格のA環とB環が**1**と同じシス型を持っているデオキシコール酸(**2**)を出発原料とした逐次合成法が適当であると考えた。

すなわち、i) デオキシコール酸(**2**)の17位の炭素鎖を3炭素減らし、光延反応により3位の水酸基を天然物と同じ立

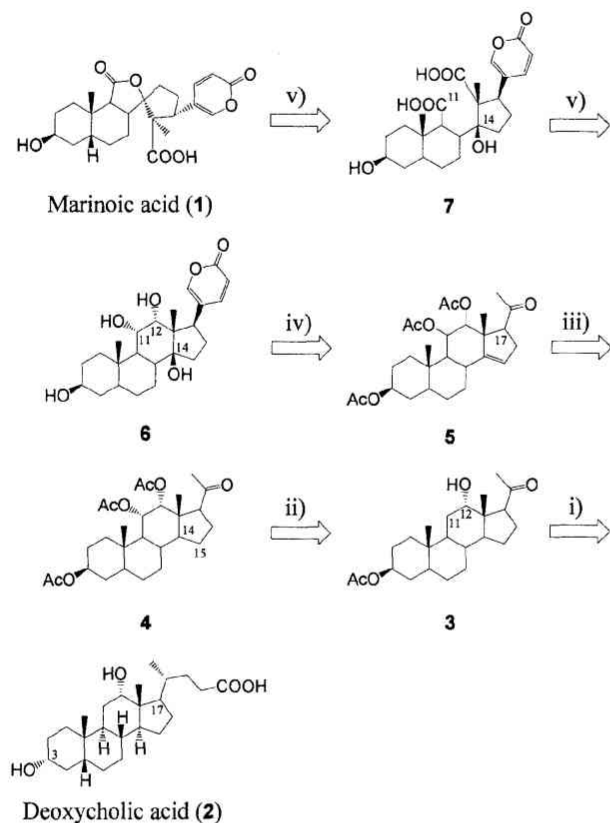
平成17年6月11日受理

* 近畿大学院総合理工学研究科理学専攻

** 理工学部理学科

*** 摂南大学薬学部

体配置にし化合物 **3** へと導く; ii) 続いて 11, 12 位のジオール化を行い, 水酸基をすべて保護した化合物 **4** とし; iii) 14 (15) 位に二重結合を導入した後に; iv) 17 位に 2-ピロン環を構築した化合物 **6** へと導く; v) 最後に 11, 12 位の酸化的開裂反応で得られた 11 位のカルボキシル基と 14 位の水酸基の間でラクトン化を行い, スピロ型を形成し天然物 (**1**) へと導く合成法である。

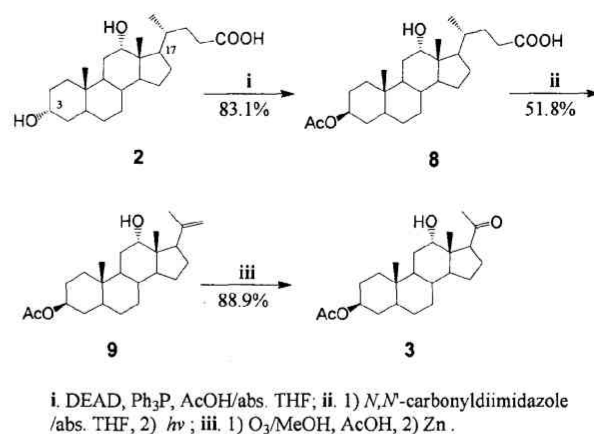


Scheme 1 Retrosynthesis of Marinoic acid.

2.2. デオキシコール酸 (**2**) の側鎖炭素数の減少反応

デオキシコール酸 (**2**) を出発物質として化合物 **3** を調製するにあたって, 17 位の側鎖炭素数の減少が必要となる。そこで, Scheme 2 に示すように 3 位の水酸基を反転させたのち光反応により炭素数を減少させる方法を用いた。すなわち, デオキシコール酸 (**2**) の 3 位水酸基をアゾジカルボン酸ジエチル, トリフェニルフォスフィン, 酢酸を用いた光延反応⁵⁾により反転させて化合物 **8** へと誘導した。得られた化合物 **8** とカルボニルジイミダゾールを反応させた後, 低圧水銀ランプ (254 nm) を照射することにより 17 位の側鎖炭素数を 2 個減少させた化合物 **9** を得た⁶⁾。化合物 **9** の二重結合部分はオゾン分解により酸化的に開裂させ, さらに 1 炭素減少した化合物 **3** へと導いた⁷⁾。

化合物 **3** の ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (Fig. 2) において, 3 位のプロトンが 5.0 ppm 付近に鋭いシグナルとして観測されていることから, このプロトンがエクアトリアル面 (α 位) に存在すると判断でき, 3 位水酸基が β 位へと反転を伴いアセチル基で保護されたことが確認された。さらに 17 位プロトンにより 20 位カルボニル基の存在が認められ, 化合物 **3** の構造であることを確認した。



Scheme 2 The side chain shortening of compound **2**.

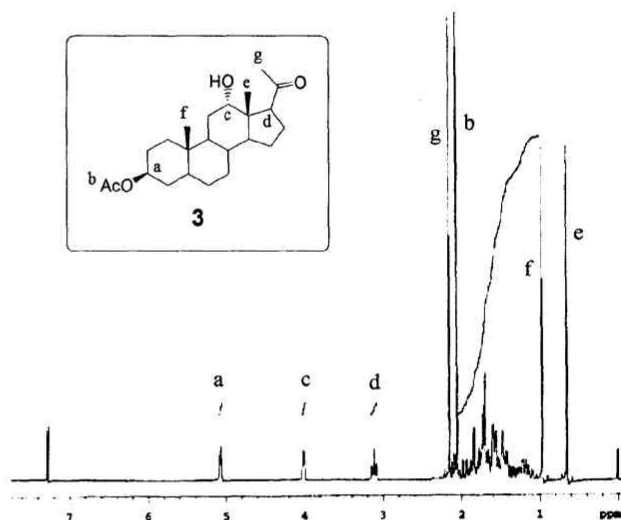
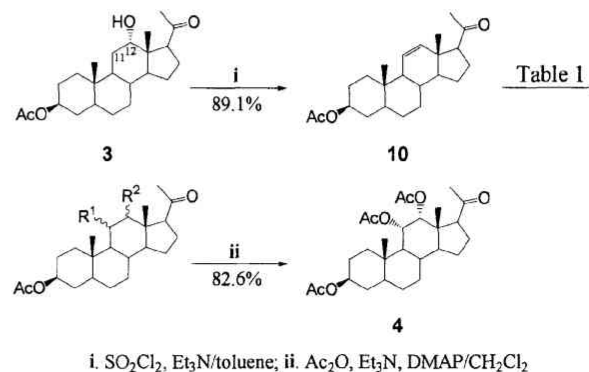


Fig. 2 ¹H NMR spectrum of compound **3**.

2.3. 11 位への酸素官能基の導入

得られた化合物 **3** の 11 位への酸素官能基の導入は, Scheme 3 に示す経路で行った。すなわち, トリエチルアミン存在下に塩化スルフリルを用いて 12 位水酸基を一度脱水し



Scheme 3 Introduction of the oxygenated functional group at C11 of compound **3**.

て、オレフィン体 **10** へと誘導した⁸⁾。得られた二重結合のジオール化については Table 1 に示した種々の条件検討を行った。

Table 1 Dihydroxylation of compound **10**.

Entry	Reagents	Products	Yield (%)
1	(1) AcOAg, I ₂ /AcOH (2) AcOH, H ₂ O		n. d.
2	KMnO ₄ , MgSO ₄ /EtOH	R ¹ : α-OH R ² : α-OH (11)	7.0
3	(1) mCPBA, NaHCO ₃ /DCM (2) AcOK/AcOH	R ¹ : β-OAc R ² : α-OH (12)	17.3
4	MMP N-oxide, cat. OsO ₄ / acetone-water	R ¹ : α-OH R ² : α-OH (11)	5.6
5	K ₃ Fe(CN) ₆ , K ₂ CO ₃ , cat. OsO ₄ / tBuOH-water	R ¹ : α-OH R ² : α-OH (11)	12.5
6	(1) OsO ₄ (1.2eq) /pyridine (2) sat. NaHSO ₃ aq	R ¹ : α-OH R ² : α-OH (11)	83.5

条件検討の結果、酢酸銀-ヨウ素、過マンガン酸カリウムを用いた系ではほとんど目的物を得ることができなかった。またメタクロ過安息香酸 (mCPBA) を用いて一度エポキシ化を行った後に開環する方法では、トランス体 **12** のみを 17.3% という低収率でしか得ることができなかった。触媒量の四酸化オスミウムを 4-メチルモルホリン=4-オキシドやヘキサシアノ鉄(III)酸カリウムで活性オスミウムとし、これを循環させて酸化する反応系においても、より低収率でしか目的物を得ることができなかった。しかし、四酸化オスミウムを 1.2 当量用いた反応 (Entry 6)⁹⁾ ではシスジオール体 **11** を 83.5% という高収率で得ることができた。続いて、生じた水酸基をアセチル基で保護することによりトリアセタート体 **4** へと導いた。

化合物 **4** の ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (Fig. 3) において、5.2 ppm 付近にダブルダブレット (J=11.4, 3.0 Hz) として 11 位のプロトン、5.4 ppm 付近にダブレット (J=3.0 Hz) として 12 位のプロトンが観測され、それらのカップリング定数により 11 位のプロトンがアキシヤル (β位)、12 位のプロトンがエクアトリアル (β位) に配置するシスのジオールであると判断できた。さらに、1.9 ppm 付近と 2.0 ppm 付近にアセチル基のシグナルが新たに 2 本分観測され、化合物 **4** の構造であると確認した。

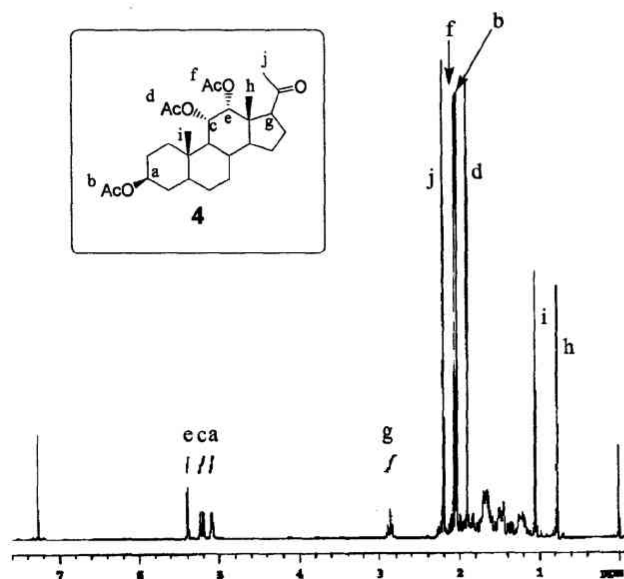
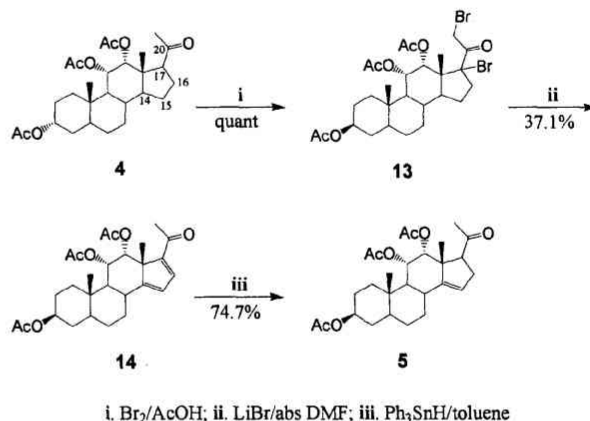


Fig. 3 ¹H NMR spectrum of compound **4**.

2.4. 14 (15) 位への二重結合の導入

次に化合物 **4** の 14(15)位にのみ二重結合を導入して化合物 **5** へ変換するためには、20 位のカルボニル基を利用して一度 14(15), 16(17) 位に二重結合を導入した後に、16(17) 位の α, β-共役二重結合のみを選択的に還元する方法が考えられる¹⁰⁾。具体的な方法としては、Scheme 4 に示す酢酸溶媒中、臭素を作用させジブromo体 **13** とした後に、無水臭化リチウムを用いて脱ハロゲン化水素して二重結合の導入を行い化合物 **14** へと誘導した。さらに、水素化トリフェニルスズを用い、α, β-共役二重結合のみを還元し化合物 **5** へと導いた。



Scheme 4 Dehydrogenation at C14 (15) of compound **4**.

化合物 **5** の ¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (Fig. 4) において、形成された 14(15)位の二重結合由来である 15 位のオレフィンプロトンが 5.2 ppm 付近に観測されたことからその構造を確認することができた。

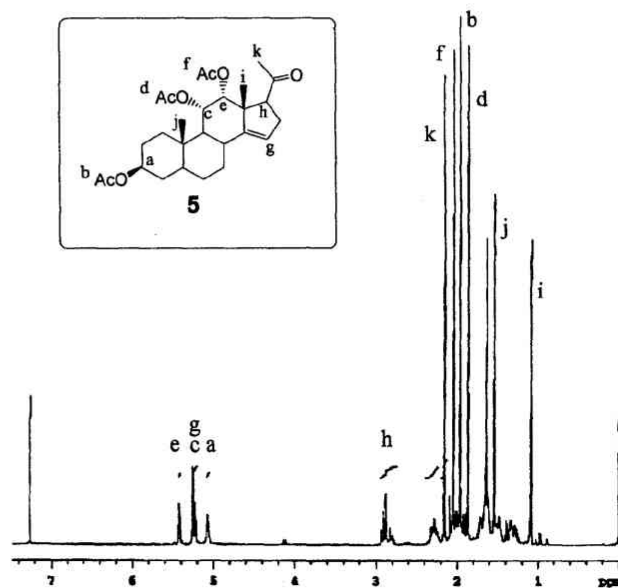
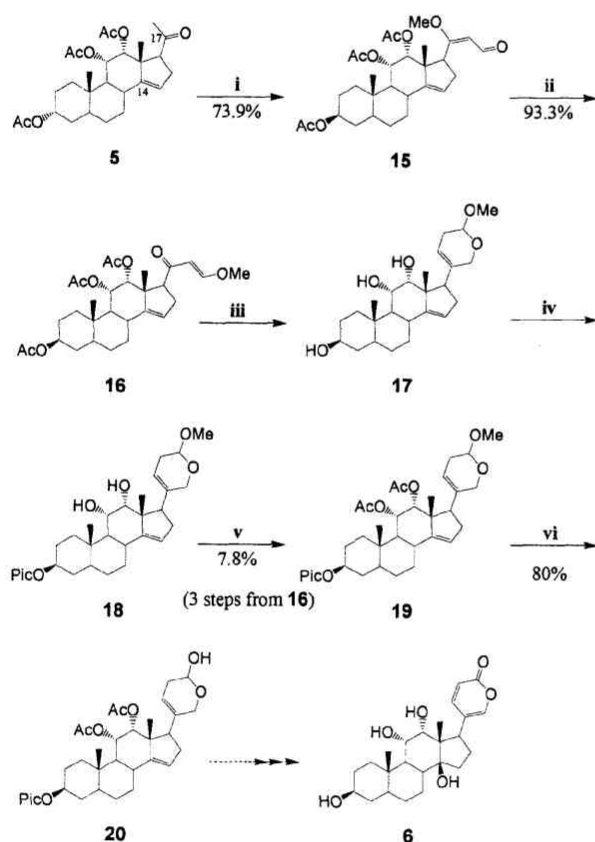


Fig. 4 ¹H NMR spectrum of compound **5**.

2.5. 17位 2-ピロン環構築の試み

天然物合成の重要中間体 **6** を化合物 **5** から調製するためには、17位に2-ピロン環を構築し14位にβ水酸基を導入する必要がある。その経路を Scheme 5 に示した。化合物 **5** の17位の炭素鎖をオルトギ酸メチルにより伸張して化合物 **15** へと導いたのち、ピリジンと臭化水素の塩を用いて転位反応を行い化合物 **16** とした¹¹⁾。続いてスルホニウムメチリドによるエポキシ化反応を利用して環化し、化合物 **17** を調製した¹¹⁾。得られた化合物 **17** の3位水酸基を酸加水分解に対して非常に安定とされるイソシアン酸フェニルで保護し、残りの11, 12位の水酸基はアセチル基で保護した。そして1Mの塩酸を用いて24位メチルエーテルのみを選択的に酸加水分解することにより2-ピロン環へ誘導可能なジヒドロピラン環を有する化合物 **20** を調製することができた。



i. 70% HClO₄/CH(OMe)₃; ii. 1) pyridine hydrobromide/abs. THF, abs. MeOH, 2) KO^tBu/^tBuOH; iii. 1) Me₃SI, 30% KH/abs DMSO, abs THF, 2) conc HCl/MeOH 3) 30% KOH; iv. PhN=C=O, pyridine/CH₂Cl₂; v. Ac₂O, Et₃N, DMAP/CH₂Cl₂; vi. 1M HCl/THF

Scheme 5 Synthetic approach towards the construction of 2-pyrone ring at C17 of compound **5**.

化合物 **20** の¹H NMR (300 MHz, CDCl₃) (Fig. 5)において、3.6 ppm から4.2 ppm の広範囲にわたって21位のプロトンが2H分観測され、5.0 ppm から5.6 ppm の間でそのプロトンの積分値が化合物 **5** のものに比べて2H分(22, 24位のプロトン)増加していることからジヒドロピラン環の構造を確認できた。さらに、6.6 ppm 付近にブロードなシグナルとしてNHの

プロトンが確認でき、芳香環の領域にフェニル基のシグナルも存在することから化合物 **20** の構造であると確認した。

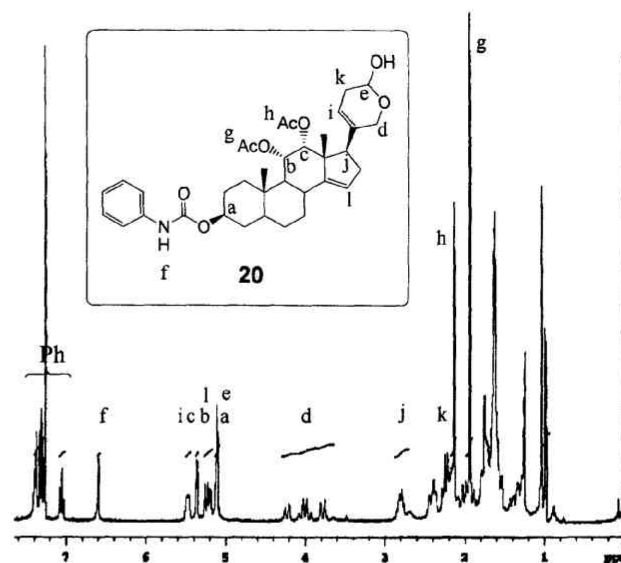
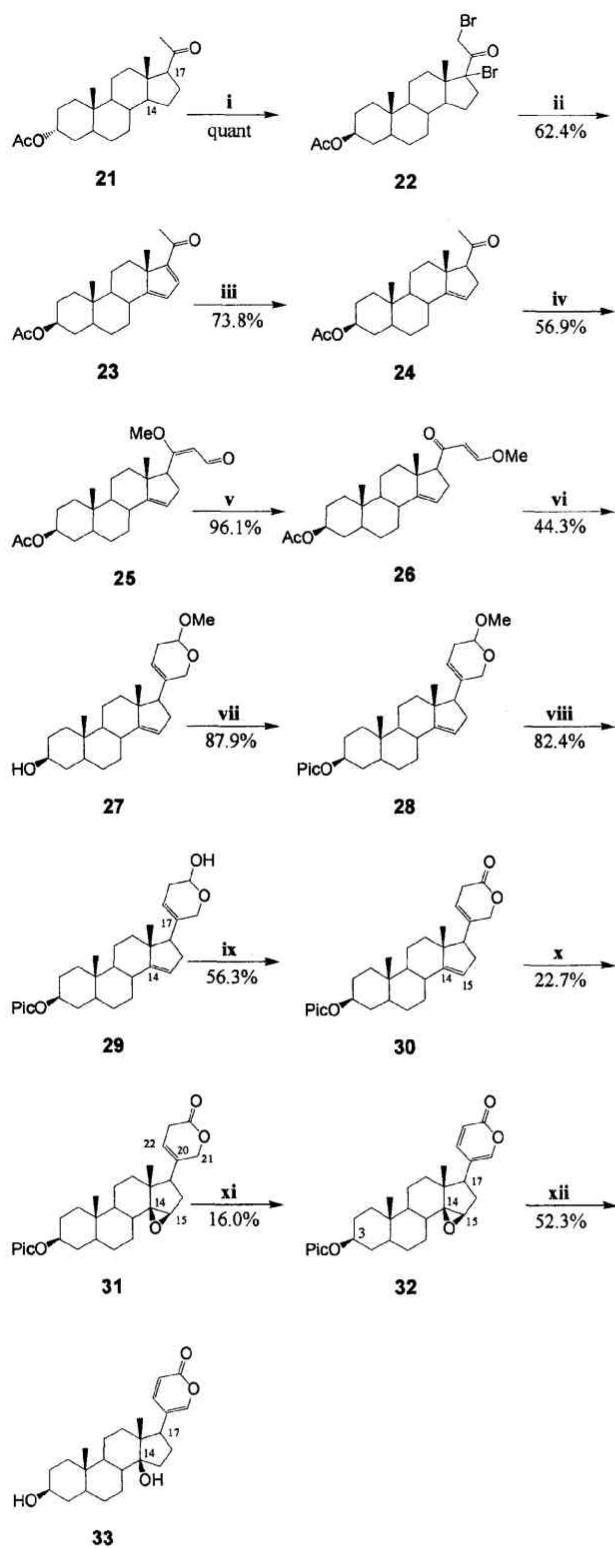


Fig. 5 ¹H NMR spectrum of compound **20**.

2.6. 17位 2-ピロン環の構築と14位β水酸基導入のためのモデル反応

上記のようにして合成した化合物 **20** は得られた量が少なく貴重であるため、化合物 **6** までの合成経路の確立はモデル化合物を用いた実験により行った。モデル化合物としては、市販されている3β-アセトキシ-5β-プレグナン-20-オン(**21**)から、Scheme 6 に示した8段階で調製された化合物 **20** のジデオキシ誘導体 **29** を用いた¹¹⁾。化合物 **29** のアセチル水酸基を塩化 N-ブチルベンゼンスルフィンイミドイルを用いて酸化し¹²⁾、ジヒドロピロン環を有する化合物 **30** へと誘導した。さらに、14(15)位の二重結合のみが N-プロモアセトアミド(NBA)によりエポキシ化された化合物 **31** を用いて、20(22)位の二重結合に臭素を酸性条件下で付加させ、1, 8-ジアザピシクロ [5.4.0] ウンデカ-7-エン(DBU)で脱臭化水素することにより17位に2-ピロン環を有する化合物 **32** へと導くことができた¹¹⁾。また、化合物 **32** に水素化リチウムアルミニウムを作用させ3位β-フェニルカルボモキシル基と14位(15位)β-エポキシドを還元し¹³⁾14位にβ水酸基をもつ化合物 **33** へと誘導することができた(Scheme 6)。

合成した化合物 **33** の¹H NMR (300 MHz, CDCl₃)において、6.2 ppm 付近にダブルットとして23位のプロトン、7.2 ppm 付近にダブルットとして21位のプロトン、7.8 ppm 付近にダブルットとして22位のプロトンが観測されたことから2-ピロン環の存在を確認することができ、3位のプロトンが4.2 ppm 付近に観測された。さらに、高分解能 FAB-MS で[M+H]⁺として387.2554 にピークが観測され、C₂₄H₃₄O₄の分子式をもつと決定された。化合物 **33** は Bufalin であるので、最終的な構造決定は天然物との¹H NMR の比較から行った(Fig. 6)。従って、Scheme 6 の合成経路により、17位ピロン環の形成と14位β水酸基の導入に成功しており、化合物 **20** から **6** までの合成経路を確立することができた。



Scheme 6 Model experiment for the establishment of synthetic route from compound **20** to compound **6**.

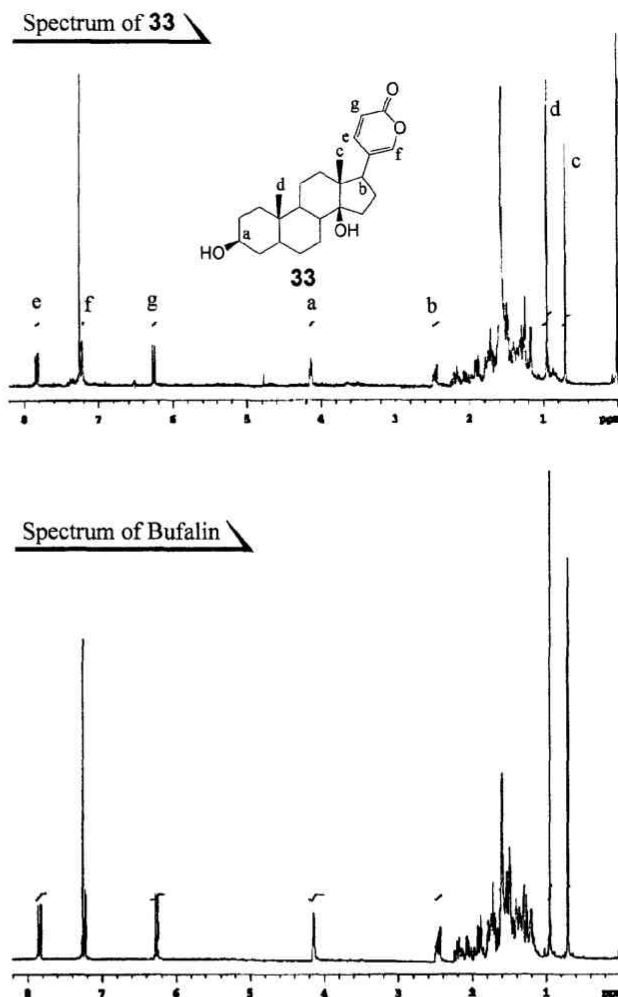


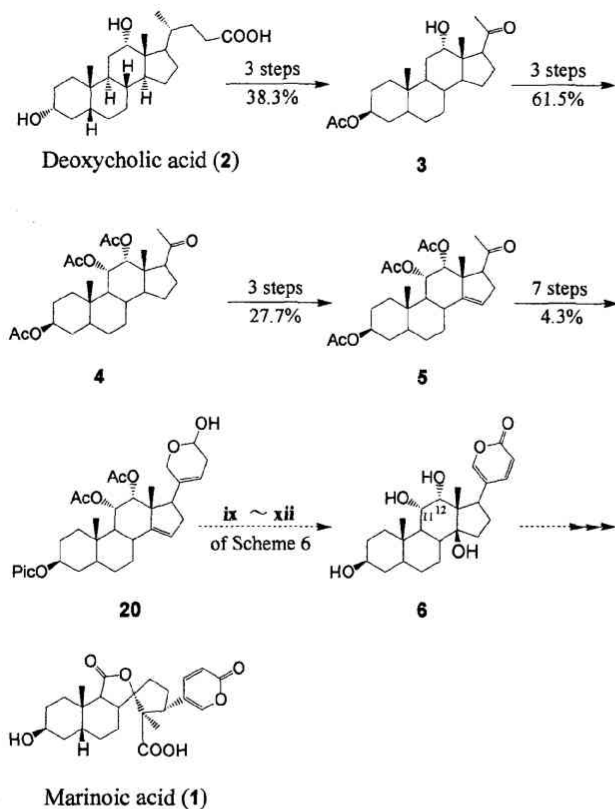
Fig. 6 ^1H NMR spectra of compound **33** and Bufalin.

3. 結論

本研究では、強心性ステロイド Marinoic acid (**1**) の全合成を目的とし、デオキシコール酸 (**2**) を出発原料とした逐次合成法を検討した。

その結果、**2** の側鎖炭素数の減少反応 (3 段階, 38.3%), 11 位への酸素官能基の導入反応 (3 段階, 61.5%) および 14(15) 位への二重結合の導入反応 (3 段階, 27.7%) に成功し、化合物 **5** の誘導に成功した。さらに 17 位での 2-ピロン環の形成反応を試み、重要中間体 **20** を 7 段階, 4.3% で誘導した。また、化合物 **20** から **6** への合成経路をモデル化合物を用いた実験により確立することができた。

Marinoic acid (**1**) の合成は、化合物 **6** の 11, 12 位のジオール部を酸化的に開裂したのち、ラクトン化を行うことにより達成されると思われる (Scheme 7)。



Scheme 7 Proposed synthetic route of Marinoic Acid (1).

参考文献

- 1) J. J. Abel and D. J. Macht, *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **3** (1911) 319.
- 2) S. M. Kupchan and J. C. Hemingway, *Tetrahedron Lett.* **2** (1968) 149.
- 3) Y. Kamano, H. Yamamoto, Y. Tanaka, and M. Komatsu, *Tetrahedron Lett.* **54** (1968) 5673.
- 4) M. Matsukawa, T. Akizawa, M. Ohigashi, J. F. Morris, V. P. Butler, and M. Yoshioka, *Chem. Pharm. Bull.* **44** (1996) 255.
- 5) P. Welzel, H. Stein, and T. Milkova, *Liebigs Ann. Chem.* (1982) 2119.
- 6) S. Iwasaki, *Helv. Chim. Acta* **59** (1976) 2753.
- 7) W. M. Hoehn and H. L. Mason, *J. Am. Chem. Soc.* **60** (1938) 1493.
- 8) S. Rachwal, P. Druzgala, Zong-Zheng Liu, J. Vlasak, M. E. Brewster, and E. Pop, *Steroids.* **63** (1998) 193.
- 9) R. P. Hsung, K. P. Cole, L. R. Zehnder, J. Wang, Lin-Li Wei, Xiao-Fang Yang, and H. A. Coverdale, *Tetrahedron* **59** (2003) 311.
- 10) E. Yoshii, T. Koizumi, H. Ikeshima, K. Ozaki, and I. Hayashi, *Chem. Pharm. Bull.* **23** (1975) 2496.
- 11) E. Yoshii, T. Oribe, T. Koizumi, I. Hayashi, and K. Tumura, *Chem. Pharm. Bull.* **9** (1977) 2249.
- 12) J. Mastuo, D. Iida, K. Tatani, and T. Mukaiyama, *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **75** (2002) 223.
- 13) E. Yoshii, T. Koizumi, S. Mizuno, and E. Kitatsuji, *Chem. Pharm. Bull.* **24** (1976) 3216.