

◆ 有機反応化学教室 ◆

教授 井上 将行 (いのうえ・まさゆき)

平成 5 年東京大学理学部卒、平成 10 年同大学大学院理学系研究科博士課程修了

前職：東北大学大学院理学研究科 助教授、博士(理学)

講師 占部 大介 (うらべ・だいすけ)

平成 13 年名古屋大学農学部卒、平成 18 年同大学大学院生命農学研究科博士課程修了

前職：東京大学大学院薬学系研究科 助教、博士(農学)

助教 長友 優典 (ながとも・まさのり)

平成 19 年東京理科大学理学部 I 部卒、平成 24 年東京大学大学院薬学系研究科博士課程修了

前職：東京大学大学院薬学系研究科 博士後期課程、博士(薬学)

助教 伊藤 寛晃 (いとう・ひろあき)

平成 20 年東京大学薬学部卒、平成 25 年同大学大学院薬学系研究科博士課程修了

前職：富士フィルム株式会社勤務、博士(薬学)

助教 萩原 浩一 (はぎわら・こういち)

平成 25 年東京大学薬学部卒、平成 27 年同大学大学院薬学系研究科修士課程修了

前職：東京大学大学院薬学系研究科 博士後期課程中退、修士(薬学)

研究の概要

有機反応化学教室は、有用な活性をもつ複雑な天然有機化合物の全合成、そのための新しい反応・合成法・戦略の開発と天然物の構造と機能をモチーフとした新機能分子の創出を主要テーマとしている。創薬にとって重要な有機化学の総合的な基礎研究を展開している。

当教室での研究基盤分子は、タンパク質などの生体高分子に強力に作用する極性官能基が密集した天然物と、生体高分子そのものの機能をもたらす巨大ペプチド系天然物である。タンパク質などの生体高分子に比べ分子量が圧倒的に小さい生物活性天然物は、多様な環状構造や官能基をもつことで、その機能情報を高密度に集積している。一方、その構造は最適・最小化されており、部分構造の欠如は、しばしば劇的な機能低下につながる。つまり天然物を、医薬や生物機能制御物質として応用するためには、その三次元的原子配列を完全に再現(全合成)する必要がある。しかし、強力な機能を持つ極性官能基密集型天然物や巨大ペプチドの全合成には、現在でも一般的な方法論が存在しない。我々は、このような高機能天然物の全合成を高度一般化するための反応・合成法・戦略の開発に取り組んでいる。さらに、自由自在に三次元構造を操れる有機合成化学を武器に、天然物が持たない化学的性質を付与した新機能分子や小型化されたタンパク質の創出を目指す。具体的には主に以下に挙げる課題について研究を行っている。

1. 全合成のための新しい反応・合成法・戦略の開発

多数の極性官能基を含む天然物の合成を計画する場合、官能基をどのように組み込むか、分子の酸化度をどのように上げるかという、合成の成否を左右する重要な問題に直面する。往々にして合成標的分子特有の三次元構造に起因する、反応性・化学選択性・立体選択性などの制御に問題が生じる。それらを回避するために適切な保護基の利用が必須となり、一般に工程数が著しく増大する。

また従来法では、同じ炭素骨格に対して異なる官能基を持つ類縁体の合成には、異なる合成ルートを開発しなくてはならないという大きな課題も残されている。

一方、炭素ラジカル種を介した炭素-炭素(C-C)結合形成反応は、高化学選択的であり、中性条件下進行するため、天然物の全合成において強力かつ実践的な手法になりうる。そこで我々は、高度に極性官能基化された部分構造の収束的連結への展開を目指し、 α -ヘテロ炭素ラジカル種を用いたC-C結合形成反応の開発に取り組んでいる。具体的には比較的弱いC-Te結合が穏和な条件下均等開裂する性質に着目し、 α -ヘテロ有機テルリドを炭素ラジカル前駆体として用いてきた。

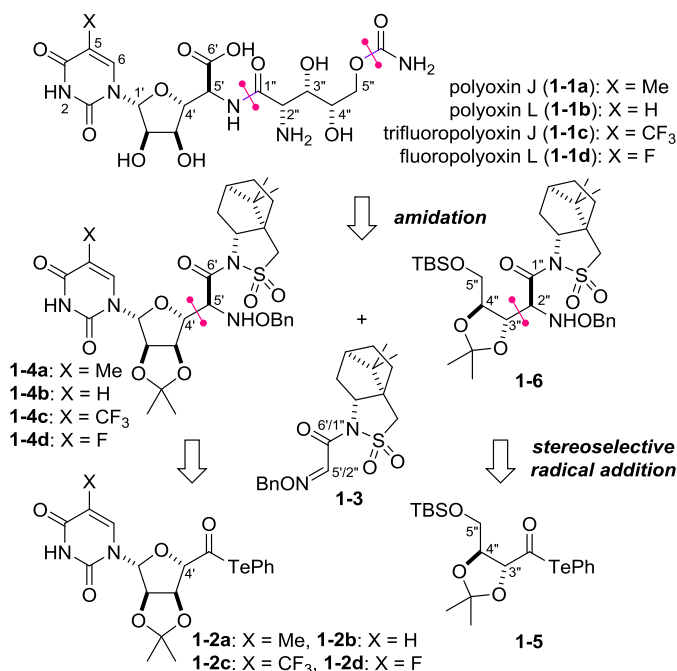
本年度は、昨年度までに確立した α -アルコキシアシルテルリドからの脱一酸化炭素を伴う、オキシムへのラジカル付加反応を鍵工程として、高酸化度核酸系天然物であるポリオキシン類の収束的かつ網羅的な全合成を達成した。以下詳細を述べる。

1-1. 高酸化度ヌクレオシド系天然物ポリオキシン J/L およびフッ素化誘導体の全合成

ポリオキシン J/L (**1-1a/b**, Scheme 1-1)は、細菌 *Streptomyces cacaoi* より単離されたヌクレオシド系天然物の一種であり、抗真菌活性を示す。フルオロポリオキシン L (**1-1d**)は、*S. cacaoi* に5-フルオロウラシルを投与する生合成的手法により得られた、人工類縁体である。**1-1d** は、**1-1a/b** 同様の抗真菌活性に加えて、抗菌活性を示すことが報告されている。**1-1a/b/d** の化学構造の差異は、核酸塩基上 C5 位の置換基のみである。一方で、トリフルオロメチル(CF₃)基を有する化合物には、興味深い生物活性を示すものが数多く知られている。そこで我々は、より強力な生物活性を有するポリオキシン類縁体の創出を志向し、C5 位を CF₃ 基で置換した5-トリフルオロポリオキシン L (**1-1c**)

を新たに設計した。有用な医薬品候補化合物となりうる **1-1a-d** の効率的な全合成法の開発は、創薬上極めて重要な課題となる。本年度我々は、**1-1a-d** の統一的全合成を達成した。

逆合成解析を Scheme 1-1 に示す。アミド縮合並びに5''位酸素原子へのカルバモイル基の導入を合成終盤に行うこととすると、**1-1a-d** はそれぞれヌクレオシド部位 **1-4a-d** と側鎖部位 **1-6** へと逆合成できる。**1-4a-d** は、 α -アルコキシアシルテルリド **1-2a-d** を前駆体とした、脱一酸化炭素を伴うキラロキシム **1-3** への分子間ラジカル付加によって合成する。この際、**1-3** の不斉補助基により、C5'位に新たに生じる不斉点を高選択的に制御できると予想した。同様に、**1-6** は、酒石酸由来の α -アルコキシアシルテルリド **1-5** と **1-3** の連結により、C2''位に関して高選択的に合成できると期待した。



Scheme 1-1. Synthetic plan for polyoxins.

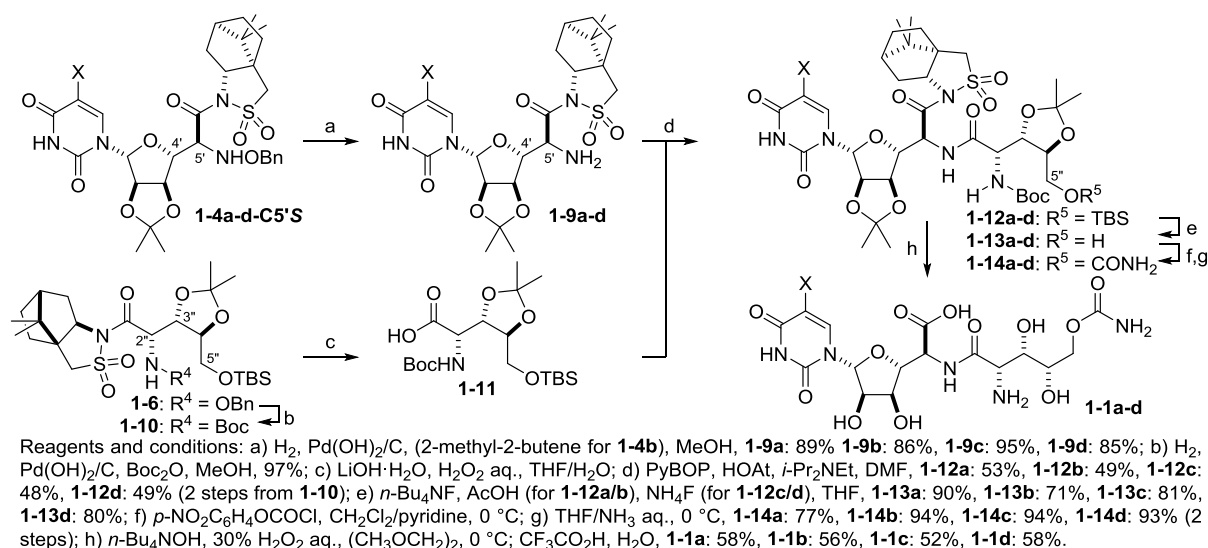
初めに、鍵反応となるラジカル付加を検討した(Table 1-1)。まず、ヌクレオシド部位 **1-4a-d** の合成に着手した(entries 1-4)。出発原料として、核酸塩基上の 5 位がメチル基(**1-7a**)、水素原子(**1-7b**)、CF₃ 基(**1-7c**)およびフッ素原子(**1-7d**)でそれぞれ置換された、ウリジン由来の各種カルボン酸を用いた。**1-7a-d** の活性エステル化と、続くフェニルテルロアニオンの求核攻撃により、ラジカル前駆体となる α -アルコキシアシルテルリド **1-2a-d** を、ワンポットで得た。

続いて **1-2a-d** に対して、酸素・トリエチルボラン存在下、不斉補助基を有するオキシム **1-3** を作用させた。この際、高反応性の核酸塩基部位を損なうことなく、良好な収率で付加成績体 **1-4a-d** が得られた。新たに生じる 2 つの不斉中心のうち、C5' 位に関しては *S* 体:*R* 体 = 5.3~2.3:1、C4' 位に関しては完全な選択性で、望む立体化学を有する化合物が高選択的に合成できた。

次に、**1-1a-d** の側鎖部位に対応する **1-6** を合成した。酒石酸由来のカルボン酸 **1-8** を、**1-7a-d** と同様の変換に付し、 α -アルコキシアシルテルリド **1-5** に導いた(entry 5)。**1-5** のオキシム **1-3** へのラジカル付加反応は、成績体 **1-6** を与えた。この際新たに生じた不斉点である C2'', C3'' 位は完全に立体制御された。

Table 1-1. Radical reactions with chiral oxime.

entry	<i>acyl tellurides</i>	<i>radical adducts</i>
1	1-2a : X = Me (83%)	1-4a (94%, C5'S:C5'R = 5.3:1)
2	1-2b : X = H (78%)	1-4b (79%, C5'S:C5'R = 4.3:1)
3	1-2c : X = CF ₃ (84%)	1-4c (93%, C5'S:C5'R = 2.3:1)
4	1-2d : X = F (88%)	1-4d (91%, C5'S:C5'R = 3.6:1)
5	1-5 (89%)	1-6 (81%)



Scheme 1-2. Total synthesis of four polyoxins.

1-4a-d-C5'S および **1-6** のアミド縮合による連結を経て、**1-1a-d** の全合成を達成した(Scheme 1-2)。まず、**1-4a-d-C5'S** に対する接触加水素分解により、5'位窒素原子上を脱保護し、1級アミン **1-9a-d**

へと導いた。続いて、もう一方の付加成績体 **1-6** を、 Boc_2O 共存下、接触加水素分解に付すと、2'位窒素原子上のベンジルオキシ基が Boc 基へと変換され、**1-10** となった。次に、**1-10** の不斉補助基を、過酸化水素存在下、塩基性条件で加水分解し、カルボン酸 **1-11** とした。

続いて、**1-9a-d** と **1-11** の両フラグメントに対して、PyBOP と HOAt を作用させて、アミド **1-12a-d** を得た。**1-12a-d** の 5'位窒素原子上の TBS 基を除去し、アルコール **1-13** に導いた。**1-13** に対して、クロロギ酸 *p*-ニトロフェニル、次いでアンモニア水溶液で処理することで、1 級ヒドロキシ基を 2 工程でカルバモイル化し、**1-14a-d** を合成した。**1-14a-d** 上のカンファースルタム部位を、過酸化水素存在下、水酸化テトラブチルアンモニウムを用いて加水分解した。最後に、酸性条件下、アセトニドと 2 つの Boc 基を除去し、**1-1a-d** の全合成を達成した。

Table 1-2. Antimicrobial activity (MIC [$\mu\text{g}/\text{mL}$]) of the four polyoxins **1-1a-d**.^[a,b]

Strains	Polyoxins			
	1-1a	1-1b	1-1c	1-1d
True fungi				
<i>Pyricularia oryzae</i> NBRC5279	8	8	16	32
<i>Trichophyton mentagrophytes</i> TIMM2789	8	8	>128	8
Gram-positive bacteria				
<i>Staphylococcus aureus</i> Smith ATCC13709	>128	>128	>128	32
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i> MRSA4	>128	>128	>128	32
Vancomycin-resistant <i>S. aureus</i> HIP14300	ND	ND	ND	16
<i>Enterococcus faecalis</i> EF1	>128	>128	>128	64

^[a] ND: not determined. ^[b] Antimicrobial activities against true fungi and Gram-positive bacteria were determined by the microdilution method.

合成した 4 つのポリオキシシン類 **1-1a-d** の真菌類およびグラム陽性細菌に対する活性試験を実施した (Table 1-2)。その結果、ポリオキシシン **J (1-1a)** およびポリオキシシン **L (1-1b)** は、真菌類に対して強力な活性を示した一方で、グラム陽性菌に対しては活性を示さなかった。この結果は、**1-1a/b** の真菌選択的作用を裏付けた。一方、フッ素化ポリオキシシンの抗菌スペクトルは、天然ポリオキシシンのものとは大きく異なった。トリフルオロポリオキシシン **J (1-1c)** はテストした菌株のほとんど全てに対して不活性であったが、フルオロポリオキシシン **L (1-1d)** は真菌だけでなく、メチシリン耐性菌 MRSA およびバンコマイシン耐性菌 VRSA を含むグラム陽性菌に対しても活性を示した。

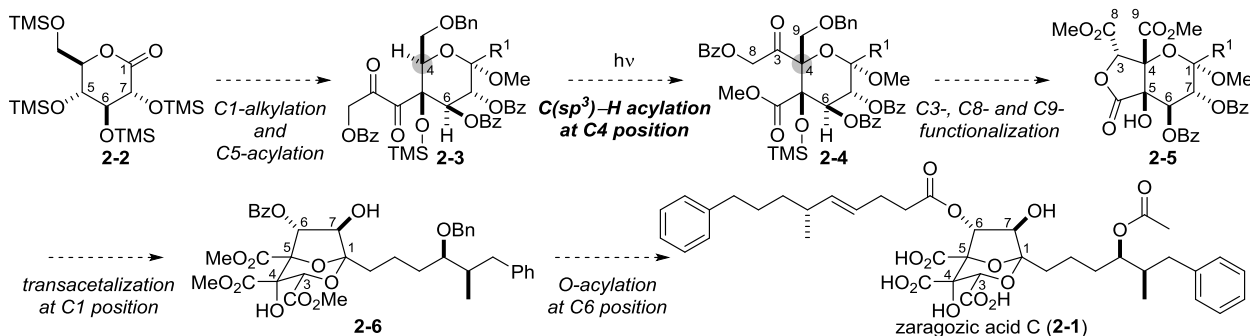
本研究において我々は、 α -アルコキシシアシルテルリドを前駆体とするラジカル反応を鍵反応として、ポリオキシシン類 **1-1a-d** の統一かつ収束的な全合成を最長 11 工程で達成した。**1-1a-d** 上に存在する高反応性の核酸塩基部位を合成初期段階から有する合成ルートを確認することで、穏和な室温かつ中性条件下進行する本ラジカル付加反応の高い官能基許容性、およびラジカル付加反応を基盤とする本収束的合成戦略の有用性を実証した。

2. 生物活性天然物の全合成研究

我々は高度に酸化された炭素環を持つテルペノイド、ステロイドおよびポリケチドを標的とし、全合成効率化を目的とした研究を遂行している。全合成研究における課題設定は、環状構造に様々な置換基を持つ化合物群に対する統一かつ短工程合成法の開発である。本年度は、強力なスクアレン合成酵素阻害剤であるザラゴジン酸 C の全合成を達成した。また、多様な生物活性を有する高酸化度アガロフラン類の骨格構築法を確立した。さらに、痛覚に関する受容体 TRPV1 に作用し強力な鎮痛活性を示すレジニフェラトキシシンの全合成を達成した。以下にその詳細を示す。

2-1. ザラゴジン酸 C の全合成

ザラゴジン酸 C (**2-1**, Scheme 2-1)は、1992年に菌代謝産物より単離・構造決定された官能基密集型天然物である。**2-1**は、スクアレン合成酵素に対する強い阻害活性を有し、新規高脂血症治療薬シード化合物として着目されている。**2-1**は、特異なジオキサビシクロ[3.2.1]オクタン母骨格上に6つの連続不斉中心を有し、3つのカルボン酸、2つのヒドロキシ基、C1位アルキル側鎖部位およびC6位アシル側鎖部位が存在している。このように、高度に密集した親水性の酸素官能基と疎水性側鎖をあわせ持つ構造ゆえ、**2-1**の全合成は挑戦的な課題である。

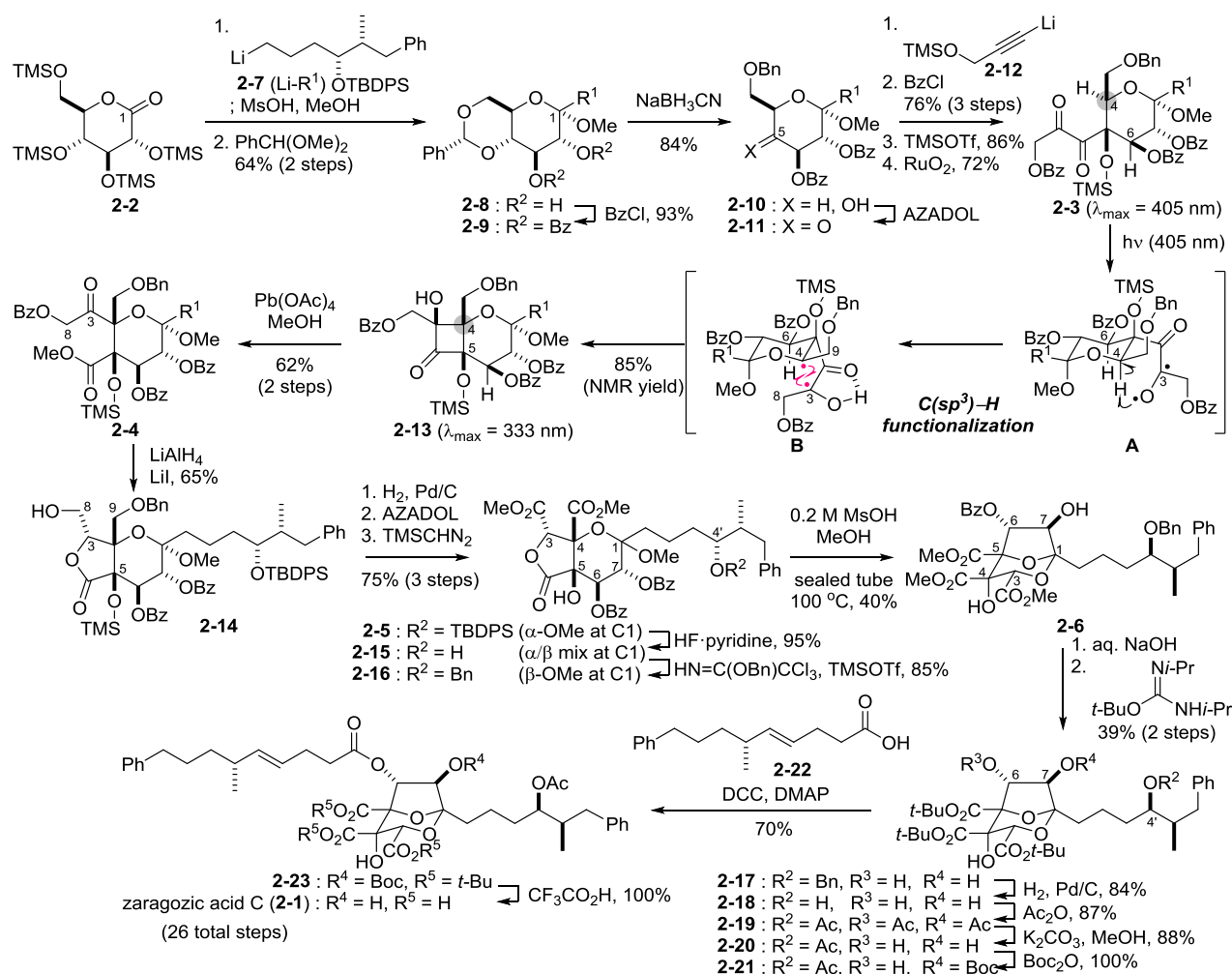


Scheme 2-1. Synthetic plan of zaragozic acid C.

2-1を合成する上での最重要課題は、連続するC4,5位四置換炭素の効率的な構築にある。そこで我々は、昨年度までに確立したNorrish-Yang光環化反応を経る位置・立体選択的なC(sp³)-H結合のアシル化を利用する**2-1**の合成計画を立案した(Scheme 2-1)。すなわち、出発物としてC6,7位立体中心を既に有するグルコノラクトン誘導体**2-2**を設定し、C1位アルキル側鎖導入とC5位アシル基導入によって、1,2-ジケトン**2-3**を合成することとした。鍵となるC(sp³)-H結合のアシル化に**2-3**を付すことで、アシル化体**2-4**へと導く。このとき、ベンゾイルオキシ基の効果によりC6位メチンC-H結合の反応性は低下し、鍵となるアシル化はエーテル酸素α位であるC4位メチンC-H結合に対し高い位置選択性を示すと予想した。続いて、**2-4**のC3,8,9位の官能基変換によりラクトン**2-5**を合成する。**2-5**は**2-1**の母骨格に必要な全ての立体中心および官能基を有している。**2-5**の分子内アセタール交換を経て、母骨格を形成し、**2-6**へと変換する。最後に、**2-6**のC6位にアシル側鎖を導入することで**2-1**を全合成する。

Scheme 2-2に**2-1**の合成経路を示す。市販のラクトン**2-2**に対し、アルキルリチウム**2-7**を付加させ、C1位側鎖部位を導入した。続く酸処理によるTMS基の除去後、ベンジリデン保護によりジオール**2-8**を得た。**2-8**をベンゾイル保護して**2-9**とした後、NaBH₃CNを用いたアセタールの位置選択的開環反応で、アルコール**2-10**へと導いた。**2-10**のC5位ヒドロキシ基をAZADO酸化でケトン**2-11**とした。続くリチウムアセチリド**2-12**の立体選択的な付加、1級ヒドロキシ基のベンゾイル保護、3級ヒドロキシ基のTMS保護および三重結合部位のルテニウム酸化の4工程により、1,2-ジケトン**2-3**を得た。**2-3**に405 nm LEDを用いて光照射したところ、鍵となるNorrish-Yang光環化反応は期待したC4位における完全な位置・立体選択性(A→B)を示し、シス縮環したシクロブタノン**2-13**を与えた。続いてMeOH溶媒中、Pb(OAc)₄を作用させ、**2-13**の四員環を酸化的に開裂し、ケトエステル**2-4**を得た。**2-4**に対し、LiI存在下LiAlH₄を作用させると、C3位ケトンのヒドリド還元が立体選択的に進行した。この際、C8位ベンゾイル基の選択的除去とラクトン形成が起り、**2-14**が得

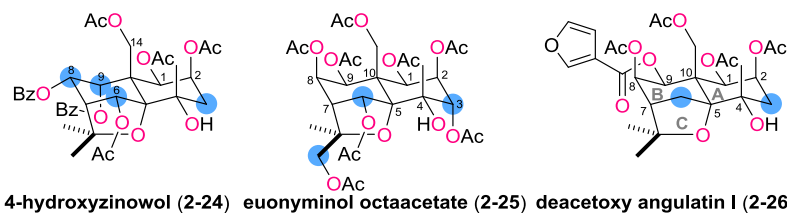
られた。続いて、C9位ベンジル基の除去、AZADO酸化によるC8,9位ヒドロキシ基のカルボン酸への同時酸化およびメチルエステル化の3工程で、**2-14**を**2-5**へと導いた。HF·pyridineによるTBDPS基の除去で**2-5**をアルコール**2-15**とした後、続くベンジル化により**2-16**を得た。0.2 M MsOH/MeOH条件下、**2-16**を封管中で加熱処理することで、分子内アセタール交換を進行させ、所望のザラゴジン酸母骨格**2-6**を構築した。塩基性条件下、**2-6**のベンゾイル基と3つのメチルエステル基を一挙に加水分解することでトリカルボン酸とした後、*t*-ブチル化によりトリオール**2-17**へと変換した。**2-17**から橋本および Carreira らの報告を参考にして合成を進めた。すなわち、ベンジル基の除去(**2-17**→**2-18**)と、続くアセチル化により**2-19**を得た。ここから、K₂CO₃/MeOH条件下C6,7位アセチル基の選択的除去(**2-19**→**2-20**)、C7位ヒドロキシ基の選択的なBoc保護(**2-20**→**2-21**)、C6位ヒドロキシ基へのアシル側鎖**2-22**の導入(**2-21**→**2-23**)およびCF₃CO₂Hによる保護基の脱保護(**2-23**→**2-1**)の4工程でザラゴジン酸**2-1**の全合成を達成した。本研究で開発した新たな効率的合成経路は、ザラゴジン酸類および官能基密集型天然物の合成経路の確立に繋がる。



Scheme 2-2. Total synthesis of zaragozic acid C.

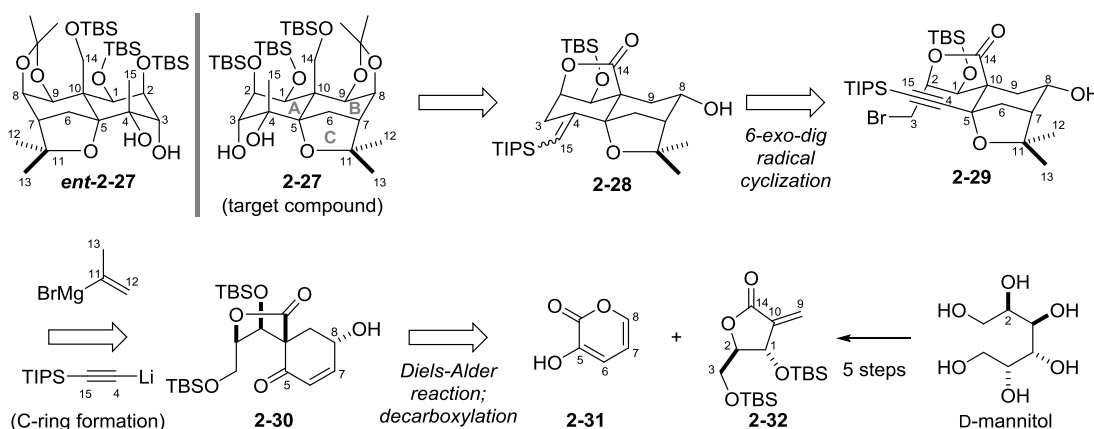
2-2. 高酸化度アガロフラン類の3環性骨格構築法の開発

アガロフラン類は、ニシキギ科の植物より単離されるセスキテルペンである。これらは、トランスデカリン (A B 環) とテトラヒドロフラン環 (C 環) が特異に縮環



した三環性骨格からなるジヒドロ-β-アガロフラン骨格を共通の炭素骨格として有する。アガロフラン類は、これまでに400種以上が単離されているが、それらは骨格上の酸素官能基の種類や立体化学が異なっており、これらの違いにより多様な生物活性を示すことが知られている。例えば、4-ヒドロキシジノウオール(2-24)は多剤免疫耐性反転活性、オイオニミノールオクタアセテート(2-25)はP糖タンパク質阻害活性、また、デアセトキシアングラチンI(2-26)は強力な殺虫活性を示す。我々は、多様な酸化度と立体化学を有するアガロフラン類の統一的合成法の確立を目指し、合成研究を行った。

高酸化度アガロフラン類の合成経路の確立を目指し、モデル化合物 *ent*-2-27 を設計した(Scheme 2-3)。*ent*-2-27 は、2-25 の9個(C1,2,3,4,5,7,8,9 および 10)の立体中心および 2-26 の8個(C1,2,4,5,7,8,9 および 10)の立体中心と同一の立体化学を有する。今回、その鏡像異性体と比較し、大量合成が容易な 2-32 を用いることとしたため、天然物とは逆の鏡像異性体に対応する 2-27 を合成標的として設定した。ラジカル環化反応による A 環構築を鍵とした 2-27 の合成計画を示す。2-27 はビニルシランの変換、ラクトンの還元的開環と2組の *cis*-ジオール(C3,4 および C8,9)の導入により、2-28 から誘導できると考えた。2-28 の A 環は、ブロミド 2-29 から発生させたラジカルが、アルキンに対して 6-*exo-dig* 環化することで構築できると予想した。2-29 は、イソプロペニルマグネシウムブロミドおよびリチウムアセチリドを立体選択的に付加させたのち、C 環を構築することで 2-30 から合成することとした。C10 位第四級炭素を含む B 環を有する 2-30 は、それぞれ既知のピロン 2-31 と α,β-不飽和ラクトン 2-32 との Diels-Alder 反応と続く脱炭酸により合成できると考えた。



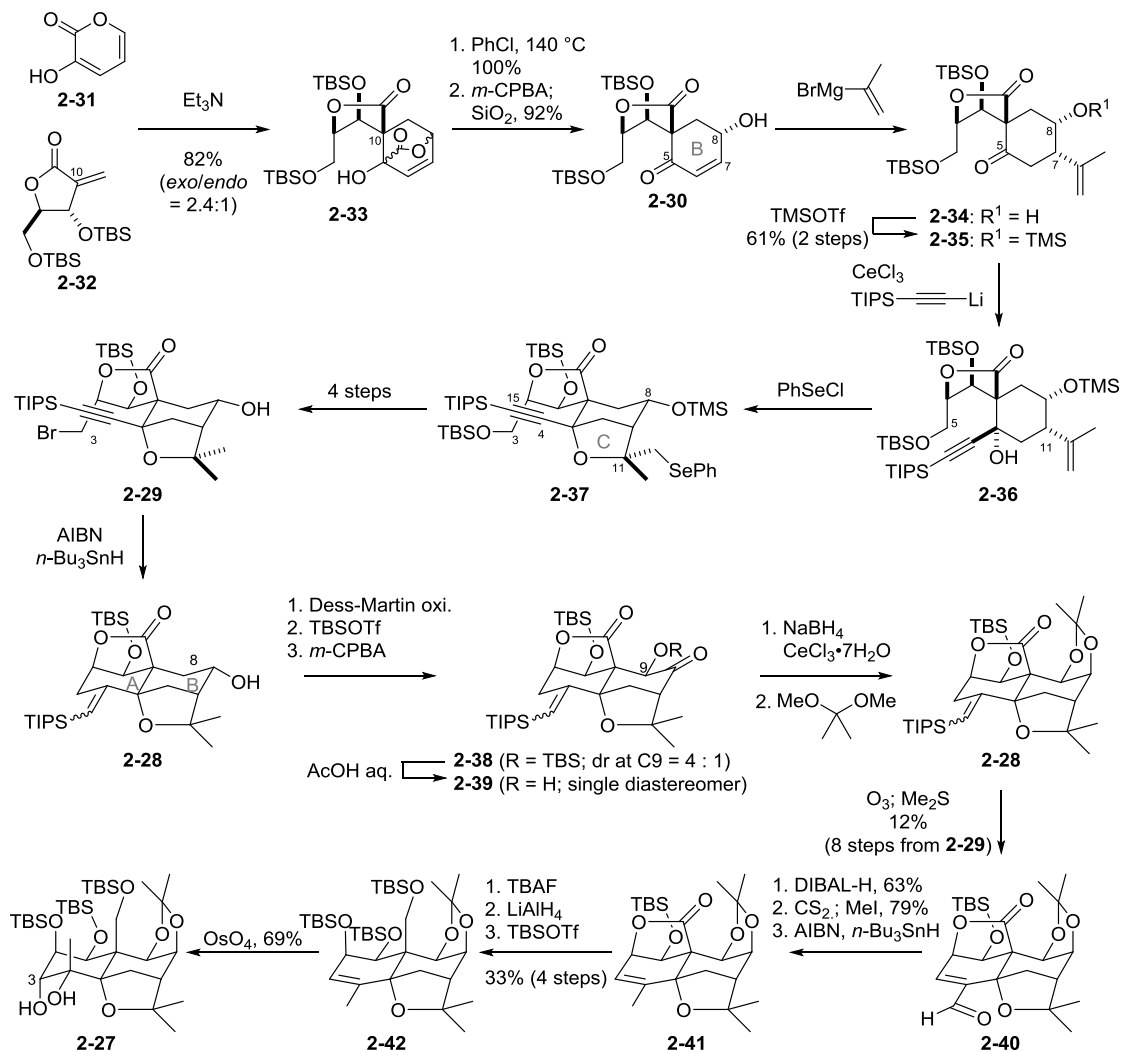
Scheme 2-3. Synthetic plan of model compound 2-27.

まず、モデル化合物 2-27 の3環性骨格を構築した(Scheme 2-4)。まず、粘液酸の熱分解により合成したピロン 2-31 と D-マンニトールから5工程にて合成したラクトン 2-32 との塩基加速型

Diels-Alder 反応により、**2-33** を立体選択的に合成した。続く脱炭酸を含む 2 工程の変換により、**2-27** の C10 位第四級炭素と B 環を有する **2-30** を得た。続いて、**2-30** の C8 位ヒドロキシ基の配位を利用した立体選択的な C7 位へのイソプロペニル基導入と、C8 位ヒドロキシ基の保護により **2-35** とした。C5 位への TIPS アセチレンの付加は、先に導入した C7 位イソプロペニル基を避ける方向から進行し、**2-36** を単一の生成物として与えた。これにより、**2-27** の三環性骨格構築に必要な全ての炭素鎖の導入を実現した。**2-36** に対しフェニルセレンニルクロリドを作用させエーテル環を形成した後、続く脱セレン化を経て、C 環を有する **2-37** を得た。続く 4 工程の変換により、C3 位にブロモ基を有する **2-29** を合成した。**2-29** のブロモ基から炭素ラジカルを発生させたところ、かさ高い TIPS 基の立体的影響により、望む 6-*exo* 環化が 7-*endo* 環化に対して優先的に進行し、A 環を有する **2-28** が主生成物として得られた。以上により、**2-27** の三環性骨格の構築に成功した。

続いて、**2-28** から B 環の官能基化を行った。C8 位ヒドロキシ基を Dess-Martin 酸化した後、生じたケトンを TBSOTf によりシリルエノールエーテルとした。これに対し *m*-CPBA を作用させたところ、ビニルシラン存在下、より電子豊富なシリルエノールエーテルが化学選択的に反応し、C9 位に望みの立体化学を有する α -シロキシケトン **2-38** が主生成物として得られた。この際のジアステレオ比は 4:1 であったが、これらのジアステレオ混合物に対し酢酸水溶液を作用させたところ、TBS 基の除去と同時に C9 位のエピ化が進行し、**2-39** が単一の生成物として得られた。**2-39** を Luche 還元 conditions に付したところ、高立体選択的に還元が進行し、望みのシスジオールを主生成物として与えた。続くアセトニド保護により得られた **2-30** に対し、オゾンに続いてジメチルスルフィドを作用させたところエナール **2-40** が生成した。そこで、**2-40** のアルデヒドを DIBAL-H により還元した後、生じたアリルアルコールを Barton-McCombie 反応により脱酸素化することで **2-41** を得た。**2-41** を、TBS 基の除去とラクTONの還元、生じたトリオールの TBS 保護により **2-42** へ変換した。最後に、**2-42** を四酸化オスミウムによりジヒドロキシ化することで、モデル化合物 **2-27** を合成した。

本研究により確立した手法を応用することで、オイオニミノールオクタアセテート(**2-25**)やデアセトキシアングラチン I (**2-26**)といった高酸化度アガロフラン類の全合成を行う。



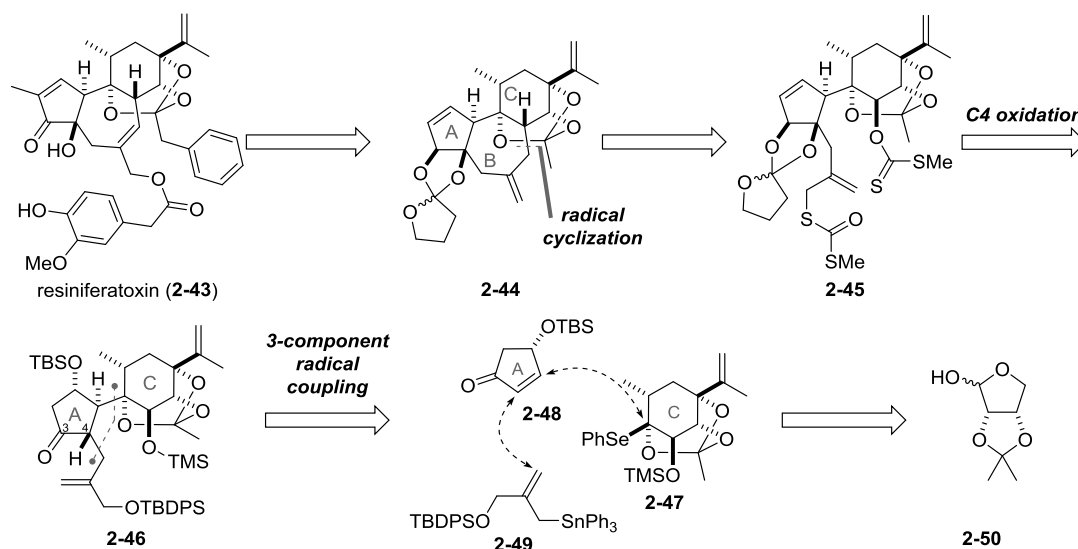
Scheme 2-4. Synthesis of model compound **2-27**.

2-3. レジニフェラトキシンの全合成

Euphorbia resinifera から単離・構造決定されたレジニフェラトキシン(**2-43**)はダフナンジテルペンであり、痛覚に関する受容体 TRPV1 に作用し強力な鎮痛活性を示す。**2-43** は、トランスに縮環した 5/7/6 員環上に多数の酸素官能基を有し、3つの四置換炭素を含む7つの連続した不斉中心と特異的なオルトエステル構造を持つ。この構造的特徴のため、**2-43** の全合成は有機合成化学的に極めて挑戦的な課題である。現在までに数多くの合成研究がなされてきたが、全合成報告は Wender らによる一例のみとなっている。我々は、天然に数多く存在するダフナンジテルペン類の統一的合成を視野に入れ、3成分ラジカルカップリングおよびラジカル環化反応を鍵とする **2-43** の全合成を達成した。

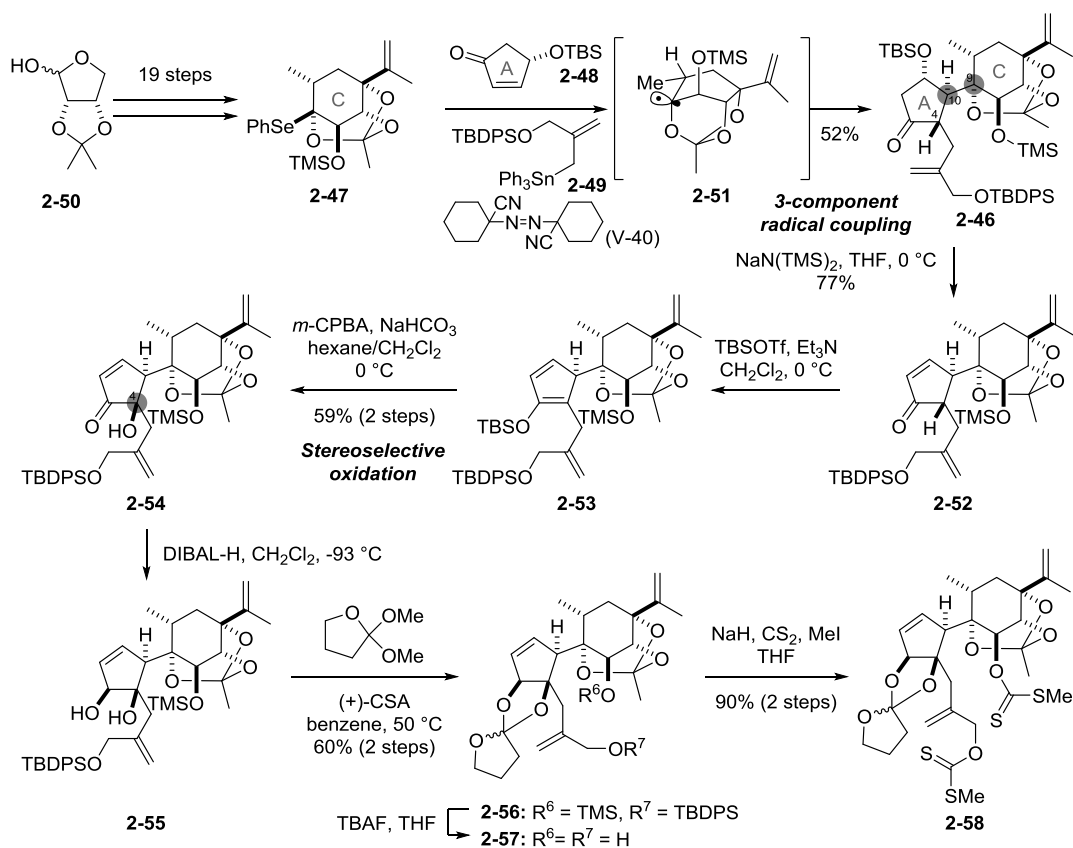
レジニフェラトキシン(**2-43**)の合成計画を Scheme 2-5 に示した。**2-43** は A/B 環の官能基化を経て **2-44** から合成することとした。**2-44** の B 環は、**2-45** の立体選択的なラジカル環化によって構築できると考えた。**2-45** は、**2-46** から C4 位ヒドロキシ化に続く、キサントゲン酸エステル化を経て導くこととした。**2-43** の官能基化された 3 環性骨格合成に必要な全炭素原子を有する **2-46** は、 α -アルコキシセレニド **2-47** から発生させた橋頭位ラジカルを用いた 3 成分ラジカルカップリングによって、

立体選択的に合成可能であると予想した。**2-47** は、既知の D-リボース誘導体 **2-50** から合成する計画を立てた。



Scheme 2-5. Retrosynthetic analysis of resiniferatoxin (**2-43**).

α -アルコキシセレニド **2-47** を用い、3 成分ラジカルカップリングを実現した(Scheme 2-6)。**2-47** は、D-リボース誘導体 **2-50** から 19 工程の変換により誘導した。ラジカル条件下、**2-47** から α -アルコキシ橋頭位ラジカル **2-51** を発生させた。電子豊富なラジカル **2-51** は、電子不足なシクロペンテノン **2-48**、電子豊富なアリルスズ **2-49** と順次反応し、付加体 **2-46** を 52%の収率で得た。本反応では、1 工程で 9 炭素増炭できるだけでなく、C9 位立体特異的、C4,10 位立体選択的に反応が進行した。続いて、NaN(TMS)₂により **2-46** の TBS オキシ基を脱離させ **2-52** とした後、Rubottom 酸化により C4 位ヒドロキシ基を立体選択的に導入し、**2-54** を合成した。**2-54** のケトンを選択的に還元して得られた *cis*-ジオール **2-55** を、2-オキサシクロペンチリデンにより保護することで **2-56** とした。**2-56** の 2つのシリル基を TBAF により除去し、生じたヒドロキシ基をビスキサンテン酸エステル化することで **2-58** へと変換した。

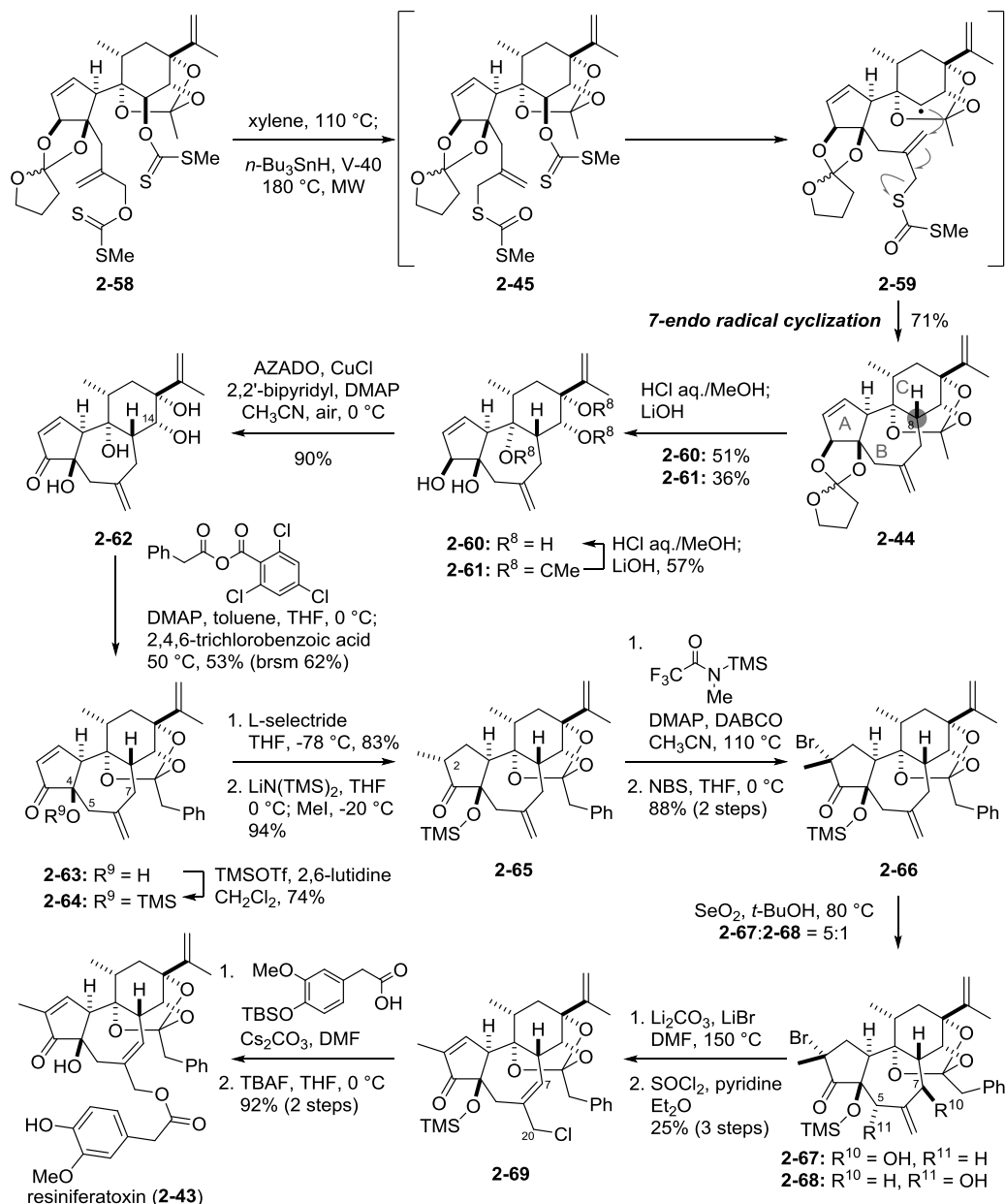


Scheme 2-6. Three-component radical coupling and synthesis of bisxanthate **2-58**.

続いて、ビスキサントゲン酸エステル **2-58** を用いたラジカル環化反応により 3 環性化合物 **2-44** を合成した (Scheme 2-7)。 **2-58** をキシレン中で加熱することで、アリルキサントゲン酸エステルの [3,3]シグマトロピー転位を進行させ、ジチオカーボネート **2-45** へと誘導した。 **2-45** に対し、系中でラジカル開始剤および水素化トリブチルスズを作用させ、ラジカル **2-59** を発生させたところ、7-endo ラジカル環化とジチオカーボネートの脱離が速やかに進行し、 **2-43** の全ての不斉中心を含む 3 環性化合物 **2-44** が良好な収率で得られた。合成した **2-44** から、A 環と B 環の官能基化を経て **2-43** の全合成を行った。 **2-44** の 2-オキサシクロペンチリデンおよびオルトエステルを同時に除去し、ペンタオール **2-60** およびジオール **2-61** を得た。 **2-61** は再度同様の条件に付すことにより **2-60** へと変換した。 **2-60** の 5 つのヒドロキシ基の内、アリルアルコールのみを選択的に酸化することで **2-62** とした。次に 4 つのヒドロキシ基の中で、C14 位の第二級ヒドロキシ基をフェニル酢酸エステル化し、酸性条件下加熱したところ、脱水を伴うオルトエステル形成が進行し、 **2-63** が得られた。残る C4 位ヒドロキシ基を TMS エーテルとして保護することで **2-64** を導いた。得られた **2-64** を使い、C7 位アリル位酸化を検討した。しかし、 **2-64** に対するセレン酸化は望まない C5 位酸化体を与えるのみで、所望の化合物が得られないことが判明した。そこで、基質構造を変換することによりこれを解決した。すなわち、 **2-64** のエノン部位を 1,4-還元し、得られたケトンの C2 位をメチル化することで **2-65** とした。ケトン **2-65** を TMS エノールエーテル化し、NBS を作用させることで **2-66** を合成した。 **2-66** に対し、二酸化セレンを作用させたところ、望む C7 位選択的なアリル位酸化が進行し、化合物 **2-67** を C5 位酸化体 **2-68** との混合物として得た。ブロモ基を脱離させた後、塩化チオニルにより、アリルアルコールを塩素化することで **2-69** とした。最後に、カルボキシレートを用いた求核置換反応に

より C20 位にホモバニロイルエステル基を導入し、TBAF で 2 か所のシリル基を除去することで **2-43** の全合成を達成した。

本研究において、我々は、高度に官能基化された基質を用いた 3 成分ラジカルカップリングおよび 7-endo ラジカル環化反応を実現することにより **2-43** の全合成を達成した。本合成戦略はラジカル反応を用いた収束的な天然物合成の新たな方法論を提供するものであり、ラジカル反応に利用したフラグメントの変更により多様な類縁天然物合成へ応用できることが特徴である。



Scheme 2-7. Total synthesis of resiniferatoxin (**2-43**) via 7-endo radical cyclization.

3. 天然物類縁体の網羅的全合成と機能解析

強力な生物活性を有する天然物は、医薬品等の有用な生体機能分子を創出するための非常に優れた構造基盤であると言える。また、これを実現するために天然物の複雑な機能を詳細に理解することは重要であり、効率的な類縁体合成と機能解析がそのための有効な手段の 1 つである。したがっ

て、我々は天然物の構造と機能をモチーフとした天然物類縁体の網羅的全合成と機能解析を課題として研究を遂行している。本年は、抗菌ペプチド WAP-8294A2 および構造単純化類縁体の全合成と機能評価を推進した。以下にその詳細を示す。

3-1. WAP-8294A2の全合成と機能評価

近年、様々な耐性菌の出現が医療現場において問題となっており、これらに対して有効な抗菌化合物の開発は創薬上極めて重要な課題と位置付けられている。WAP-8294A2 (**3-1**, Figure 3-1)は、1997年に *Lysobacter* 属細菌の培養上清から単離・構造決定された環状デプシペプチド天然物であり、ロチリブシンという名称でも知られる抗菌化合物である。12個のアミノ酸、脂肪酸鎖が形成する40員環からなる**3-1**は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)に対して0.78 $\mu\text{g/mL}$ の最小発育阻止濃度(MIC)で抗菌活性を示すことが報告されており、米国ではMRSA感染症治療に対する適応で第I相臨床試験に付されている。

また、**3-1**と類似の構造を有する天然物として、ライソシンE (**3-3**)が挙げられる。**3-3**は、既存の抗生物質とは異なり、黄色ブドウ球菌の細胞膜に存在し電子伝達系に必須の補酵素であるメナキノン(MK, Figure 3-1)を標的とし、細菌細胞膜破壊活性を有することが明らかにされている。一方で、**3-3**はヒトの電子伝達系で用いられるユビキノロン(UQ, Figure 3-1)とは相互作用しないため、**3-3**の細菌選択性はMKを標的とすることに起因すると考えられている。

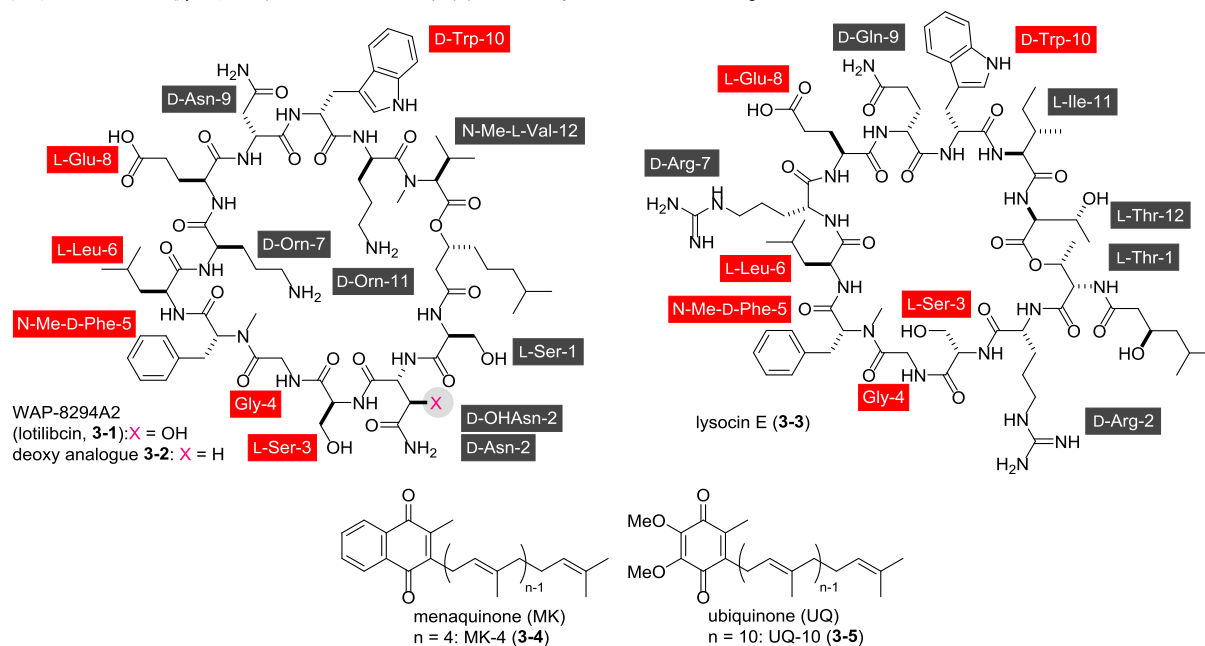


Figure 3-1. Structures of WAP-8294A2 (lotilibicin, **3-1**), deoxy analogue **3-2**, lysocin E (**3-3**), menaquinone-4 (MK-4, **3-4**), and ubiquinone-10 (UQ-10, **3-5**).

一方で、**3-1**の作用機構については、その臨床上の重要性にも関わらず、これまで詳細は不明であった。1998年の報告では、**3-1**の抗菌活性がアニオン性リン脂質であるカルジオリピン(CL)の添加によって減弱したことから、**3-1**はCL等のアニオン性リン脂質を認識することで膜破壊活性を有するという仮説が提唱されていた。しかしながら、**3-1**は分子内に2つの塩基性側鎖と1つの酸性側鎖を有することから、生体内環境において分子全体の荷電は+1を示し、アニオン性リン脂質であるCLとは非特異的な静電相互作用を生じることが予想された。そこで、本研究では、**3-1**および合成的に供給

が容易な構造単純化類縁体**3-2**の全合成法を確立し、これらの生物活性を詳細に評価することで作用機構を解明することを目的とした。

3-1および**3-2**の全合成に関しては、統一的な合成法確立のため、Fmoc固相合成戦略を適用することとした。これにより、煩雑な中間体の精製工程および類縁体ごとに必要となる条件の最適化を最小限にし、主鎖構造の効率的な構築を実現することを目指した。固相合成ユニットとしては、Figure 3-2に示すFmoc保護アミノ酸を用いた。固相担体としては、酸条件による切り出しが可能なWang-ChemMatrix樹脂を採用し、第8残基側鎖カルボン酸を樹脂と連結することでマクロラクタム化反応を樹脂上で実施することとした。また、固相上での縮合効率を最大化するために、アミド構築に比して反応効率の低いエステル部位の構築はあらかじめ液相で行い、化合物**3-14**として固相上で縮合することとした。固相合成ユニットのうち、**3-14**と**3-15**は市販されておらず、合成的供給を要する。なお、**3-2**の合成には**3-15**の代わりに第9残基ユニットと同一の**3-12**を用いた。**3-2**を合成・評価することにより、**3-1**の第2残基側鎖に存在するβ-OH基の生物活性に対する寄与を明らかにすることとした。

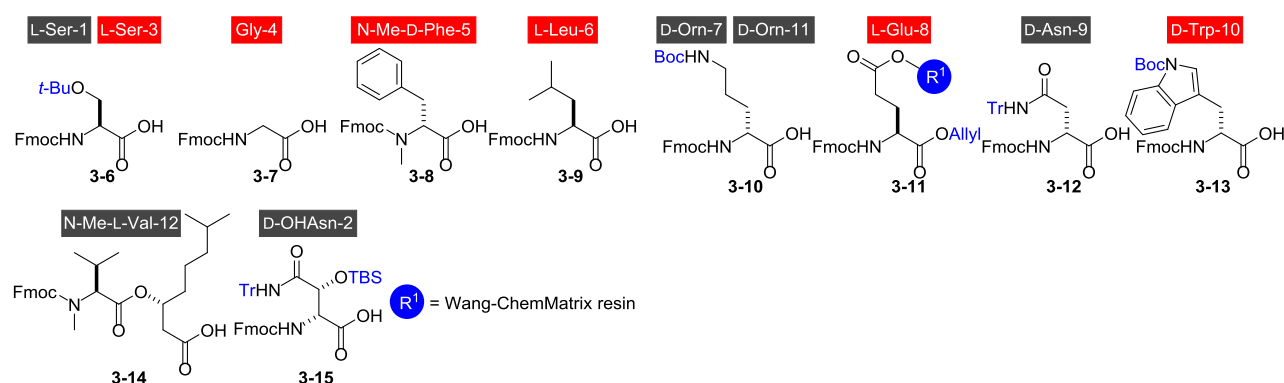
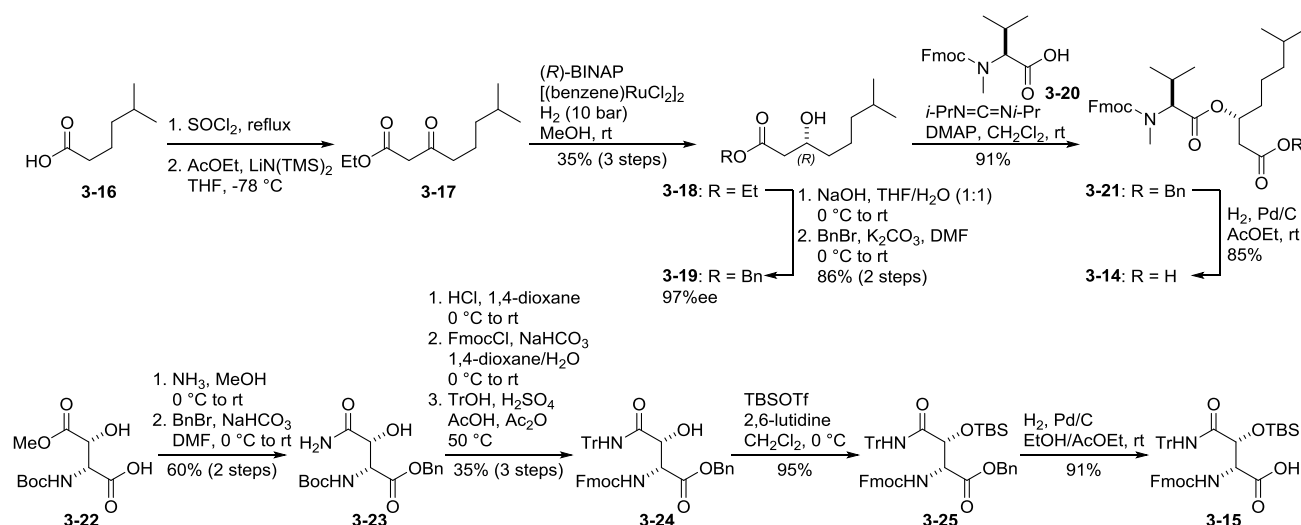


Figure 3-2. Building blocks for **3-1** and **3-2**.

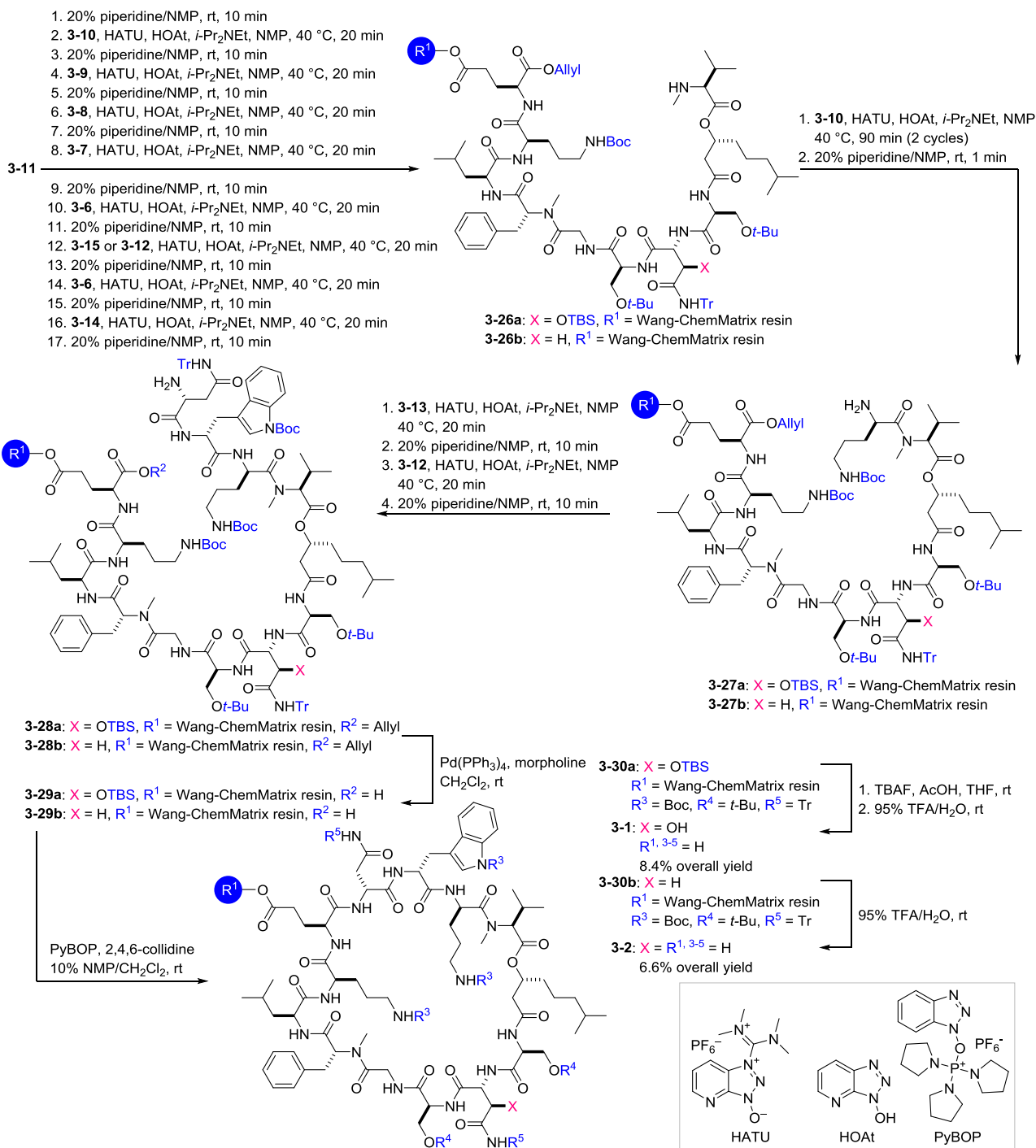


Scheme 3-1. Synthesis of **3-14** and **3-15**.

3-1の固相合成に先立ち、合成的供給が必要な**3-14**と**3-15**を調製した(Scheme 3-1)。カルボン酸**3-16**から調製した酸塩化物に対し、酢酸エチルから生じるエノラートを導入し、**3-17**とした。これを野依不斉水素化条件に付すことで立体選択的にケトン還元し、**3-18**を得た。続くエステル加水分解とベンジルエステル化により、**3-19**とした後、2級ヒドロキシ基とFmoc-N-メチルバリン**3-20**をジイソプロピルカルボジイミドとDMAP存在下縮合することで、エステル**3-21**を得た。最後にベンジルエステルを選択的に除去することにより、目的のエステル**3-14**を合成した。

化合物**3-15**は、D-アスパラギン誘導体である**3-22**から合成した。アンモニアによるエステルアミド交換により側鎖にアミド基を構築した後、ベンジルエステル化により**3-23**を得た。塩酸によりBoc基を除去し、アミンをFmoc基で保護、1級アミドをトリチル基で保護することにより、**3-24**を調製した。2級ヒドロキシ基をTBSOTfと2,6-lutidine存在下、TBSエーテルとして保護した後、ベンジルエステルを選択的に除去することにより目的の保護アミノ酸**3-15**を合成した。

固相合成に必要な全てのユニットが揃ったため、**3-1**および類縁体の固相合成に着手した(Scheme 3-2)。グルタミン酸アリルエステルを担持した樹脂**3-11**を出発物質とし、20%ピペリジン/NMPによるFmoc基の除去と、HATU、HOAtを用いたアミノ酸ユニットの縮合反応を、マイクロ波照射による40°C加熱条件下20分行うことでアミノ酸を導入した。本反応サイクルを繰り返すことでペプチド鎖を伸長した。すなわち、アミノ酸ユニットである**3-10**、**3-9**、**3-8**、**3-7**、**3-6**、**3-15** (**3-1**の合成に使用)または**3-12** (**3-2**の合成に使用)、**3-6**および**3-14**を導入し、分子内にエステル構造を有する樹脂担持ペプチド中間体**3-26a/b**を得た。続くアミノ酸ユニット**3-10**と立体障害により反応性の低いN-メチルアミンとの縮合は、通常よりも長い縮合時間(90分)かつこれを2回繰り返すことで実現した。続くピペリジンによるFmoc基の脱保護は、エステルへのN末端アミンの攻撃により生じるジケトピペラジンの副生を抑制するため、1分間という短い時間で実施した。得られた**3-27a/b**をさらに2残基伸長することにより、鎖状ペプチド**3-28a/b**を得た。続いて、C末端のアリルエステルをモルホリン存在下Pd(PPh₃)₄により化学選択的に除去することで、マクロラクタム化の基質である**3-29a/b**を合成した。これに対し、PyBOPと2,4,6-collidineを作用させることにより、樹脂上でのマクロラクタム化が期待通り進行し、40員環構造を有する**3-30a/b**が得られた。樹脂からの切り出しおよび脱保護に適用する反応条件は、**3-30a**および**3-30b**でそれぞれ最適化した。**3-30b**は、95%TFA/H₂O条件に付すことにより、全ての側鎖保護基の除去と樹脂からの切り出しが同時に進行し、逆相HPLCによる精製を経て目的の**3-2**を26工程総収率6.6%で得ることに成功した。一方で、同条件を**3-30a**に適用した場合、第2残基側鎖の2級ヒドロキシ基保護に用いたTBS基が残存した。そこで、TBAFおよび酢酸存在下TBS基を選択的に脱保護した後に、95%TFA/H₂O条件に付すことにより、副反応を抑制しながら全ての保護基を除去した。これを逆相HPLCによる精製に付すことで、27工程8.4%の総収率で目的の**3-1**を得ることに成功した。合成した**3-1**の¹H NMR、¹³C NMRを含む各種スペクトルデータは、報告されている天然物のものと良く一致した。また、本研究で新たに得られた**3-2**の¹H NMRおよび¹³C NMRは、**3-1**のそれらとの間に高い類似性が認められた。このことから、第2残基側鎖のヒドロキシ基の有無は、**3-1**の主鎖の形成する3次元構造には大きな影響を与えないことが示唆された。



Scheme 3-2. Solid-phase total synthesis of **3-1** and **3-2**.

続いて、合成した**3-1**および**3-2**の生物学的機能を統一的に評価した。まず、抗菌スペクトル測定を実施したところ、報告と同様にグラム陽性菌抗菌に対して顕著な抗菌活性を示した(**Table 3-1**)。また、**MRSA**に対する抗菌活性については、報告されている値と同等であることが示された。興味深いことに、構造単純化類縁体である**3-2**は、*S. pyogenes*を除いた全てのグラム陽性菌株に対して、**3-1**と同一の最小発育阻止濃度(MIC)の値を示した。以上より、抗菌活性に対して第2残基側鎖のヒドロキシ基は関与しないことが示唆された。また、上記の**3-1**および**3-2**の抗菌活性特性は、**3-3**とも類似

していた。

さらに、抗菌活性メカニズムに関する知見を得るため、膜破壊活性を細菌膜を模倣した系で評価した。カルボキシフルオレセイン(CF)を蛍光指示薬として封入したリポソームを調製し、**3-1**および**3-2**の添加によって生じた膜破壊活性を、放出により希釈されたCF分子由来の蛍光増大によって評価した。脂質膜組成として、ホスファチジルコリン(PC)/ホスファチジルグリセロール(PG) (50:50)で構成されるリポソーム、PC/PG/CL(50:40:10)で構成されるリポソーム、またはPC/PG(50:50)に対して1.25 mol%のMK-4 (**3-4**)またはUQ-10 (**3-5**)を添加したリポソームの計4種類を用い、CL、**3-4**、**3-5**の膜破壊活性に関する影響を、**3-1-3-3**の希釈系列を用いてEC₅₀を算出することで評価した。結果として、**3-1**、**3-2**ともに、**3-3**と同様に**3-4**含有リポソームに対する選択的膜破壊活性が観測された(Figure 3-3)。一方で、CLによる膜破壊活性の促進効果は認められず、CLは**3-1**および**3-2**の特異的な標的ではないことが示された。以上より、**3-1**および**3-2**は、**3-3**と同様に**3-4**を含む脂質二重膜を認識して膜破壊活性を示すことで抗菌活性を示すことが強く示唆された。

Table 3-1. Antimicrobial activities of **3-1-3-3**.

strains	MIC (μg/mL) ^a		
	3-1	3-2	3-3
Gram-positive bacteria			
Methicillin-susceptible <i>S. aureus</i> MSSA1 (clinical isolate)	2	2	4
Methicillin-resistant <i>S. aureus</i> MRSA4 (clinical isolate)	2	2	4
<i>Staphylococcus simulans</i> JCM2424	2	2	4
<i>Staphylococcus pseudintermedius</i> JCM17571	2	2	4
<i>Bacillus subtilis</i> JCM2499	2	2	4
<i>Bacillus cereus</i> JCM20037	2	2	2
<i>Streptococcus pyogenes</i> SS1-9	64	128	>128
<i>Streptococcus pneumoniae</i> (clinical isolate)	>128	>128	>128
Gram-negative bacteria			
<i>Serratia marcescens</i> (clinical isolate)	>128	>128	>128
<i>Escherichia coli</i> W3110	>128	>128	>128
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> PAO1	>128	>128	>128
True fungi			
<i>Candida albicans</i> ATCC10231	>128	>128	>128
<i>Candida tropicalis</i> pK233	>128	>128	>128
<i>Cryptococcus neoformans</i> H99	64	64	>128

^aAntimicrobial activities against various bacteria and true fungi were determined by the microdilution method.

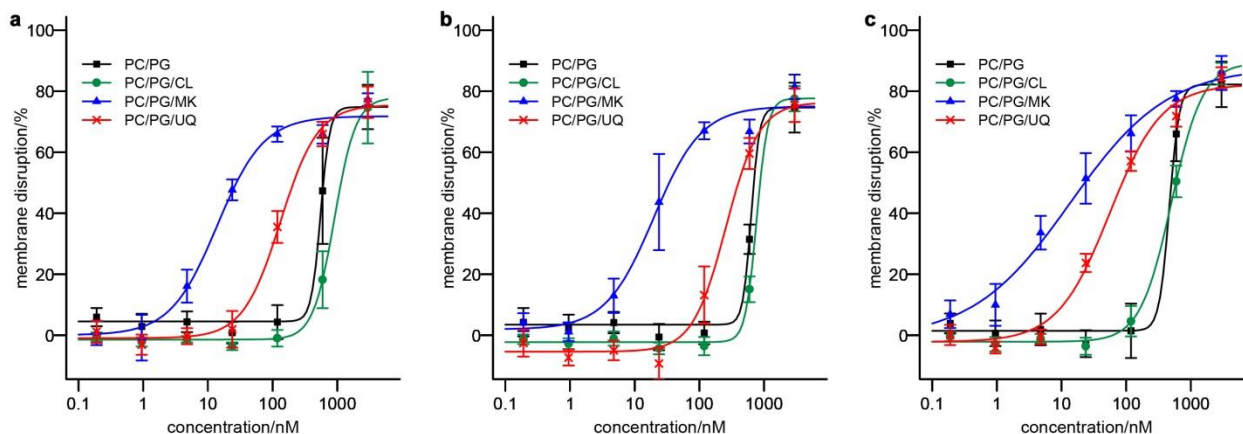


Figure 3-3. Comparison of dose-dependent membrane disrupting activities of **3-1** (a), **3-2** (b), and **3-3** (c) against the four LUVs [PC/PG = 50:50, PC/PG/CL = 50:40:10, PC/PG = 50:50 containing 1.25 mol% MK-4 (**3-4**) or UQ-10 (**3-5**)]. The total lipid concentration of each LUV solution was adjusted to 8 μ M. Mean values \pm SD of three independent experiments are shown.

本研究成果は、**3-1**がMKを認識して膜破壊活性を有することを初めて示したことに加え、**3-1-3-3**に内在するMK認識のための構造要件に関して極めて重要な示唆を与えるものであり、これらの知見を応用した新規抗菌化合物および新規機能分子創出への展開が期待される。

学 術 論 文

- 1) K. Masuda, M. Nagatomo, M. Inoue, "Direct Assembly of Multiply Oxygenated Carbon Chains by Decarbonylative Radical–Radical Coupling Reactions," *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 207-212.
- 2) D. K. Inaoka, M. Iida, S. Hashimoto, T. Tabuchi, T. Kuranaga, E. O. Balogun, T. Honma, A. Tanaka, S. Harada, T. Nara, K. Kita, M. Inoue, "Design and Synthesis of Potent Substrate-based Inhibitors of the *Trypanosoma cruzi* Dihydroorotate Dehydrogenase," *Bioorg. Med. Chem.* **2017**, *25*, 1465-1470.
- 3) T. Kawamata, M. Nagatomo, M. Inoue, "Total Synthesis of Zaragozaic Acid C: Implementation of Photochemical C(sp³)–H Acylation," *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 1814-1817.
- 4) H. Fujisawa, T. Ishiyama, D. Urabe, M. Inoue, "Construction of the Septahydroxylated ABC-Ring System of Dihydro- β -Agarofurans: Application of 6-*exo-dig* Radical Cyclization," *Chem. Commun.* **2017**, *53*, 4073-4076.
- 5) K. Masuda, M. Tanigawa, M. Nagatomo, D. Urabe, M. Inoue, "Construction of Carbocycles Initiated by Cu-Catalyzed Radical Reaction of Cl₂C(CN)₂," *Tetrahedron* **2017**, *73*, 3596-3605.
- 6) H. Umihara, S. Yokoshima, M. Inoue, T. Fukuyama, "Total Synthesis of (-)-Morphine," *Chem. Eur. J.* **2017**, *23*, 6993-6995.
- 7) H. Fujino, M. Nagatomo, A. Paudel, S. Panthee, H. Hamamoto, K. Sekimizu, M. Inoue, "Unified Total Synthesis of Polyoxin J, L, and Fluorinated Analogues on the Basis of Decarbonylative Radical Coupling Reactions," *Angew. Chem., Int. Ed.* **2017**, *56*, 11865-11869.
- 8) S. Hashimoto, S. Katoh, T. Kato, D. Urabe, M. Inoue, "Total Synthesis of Resiniferatoxin Enabled by Radical-Mediated Three-Component Coupling and 7-*endo* Cyclization," *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 16420-16429.

総説・著書

- 1) M. Inoue, "Evolution of Radical-Based Convergent Strategies for Total Syntheses of Densely Oxygenated Natural Products," *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50*, 460-464.
- 2) 井上 将行, 長友 優典, 占部 大介, "ラジカル反応を基盤とした高酸化度天然物の収束的合成戦略," *ファルマシア* **2017**, *53*, 860-864.

受賞

- 1) 井上将行, Swiss Chemical Society Lectureship Award 2017/2018
- 2) 長友優典, 第17回天然物化学談話会奨励賞
- 3) 橋本哲(博士課程3年), "レジニフェラトキシンの全合成," 第59回天然有機化合物討論会奨励賞
- 4) 藤野遥(博士課程2年), "Unified Total Synthesis of Polyoxins J, L, and Fluorinated Analogues," The 7th Junior International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (JICCEOCA-7) Oral Presentation Award

招待講演

- 1) M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," Cambridge-UTokyo Strategy Partnership Symposium on Chemistry and Chemical Biology, The University of Tokyo, Tokyo, February 9, 2017.
- 2) M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," Spanish-Japanese Symposium on Modern Synthetic Methodology, Gijón, Spain, April 24, 2017.
- 3) 井上将行, "薬を創る化学," EMP プログラム, 東京大学(東京都, 文京区), 2017年1月20日
- 4) 井上将行, "ペプチド中分子の全合成・精密分子認識・抗菌活性," 新学術領域研究「反応集積化が導く中分子戦略: 高次生物機能分子の創製」第3回成果報告会, 早稲田大学(東京都, 新宿区), 2017年1月28日
- 5) 井上将行, "ペプチド系天然物中分子の合成・機能・活性," 中分子創薬研究のフロンティアー反応集積化が導く中分子戦略: 高次生物機能分子の創製一 (日本薬学会第137年会), 仙台国際センター(宮城県, 仙台市), 2017年3月27日
- 6) 井上将行, "複雑な化合物を合成するときの合成戦略," 化学技術基礎講座・製品開発に必要な有機合成化学の基礎, 日本化学会館(東京都, 千代田区), 2017年9月28日
- 7) 長友優典, "官能基密集型天然物の全合成戦略の開発," 第52回天然物化学談話会, 熱川ハイツ(静岡県, 賀茂郡), 2017年7月6日