

◆ 天然物合成化学教室 ◆

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 **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 助教、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：富士フイルム株式会社勤務、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、博士(薬科学)

研究の概要

天然物合成化学教室は、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ちうる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考案しなくてはならないという大きな課題も残されている。

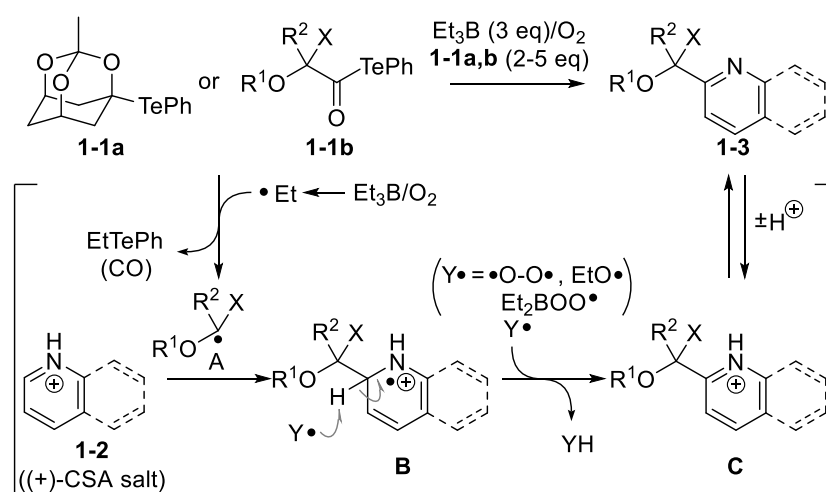
炭素ラジカル種を介した炭素-炭素(C-C)結合形成反応は、高化学選択的であり、中性条件下進行するため、天然物の全合成において強力かつ実践的な手法になりうる。そこで我々は、高度に極性官能基化された部分構造の収束的連結への展開を目指し、 α -ヘテロ炭素ラジカル種を用いた C-C 結合形成反応の開発に取り組んでいる。具体的には比較的弱い C-Te 結合が穏和な条件下均等開裂する性質に着目し、 α -ヘテロ有機テルリドを炭素ラジカル前駆体として用いてきた。

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、分子間ラジカル付加反応を鍵工程として、含窒素芳香族化合物と含酸素複素環化合物の連結反応の確立、および α -ジアルコキシアシルテルリドを用いた第四級炭素構築法の確立ならびに 5-エピ-オイデスム-4(15)-エン-1 β ,6 β -ジオール(**1-4**)の全合成を達成した。以下詳細を述べる。

1-1. 含窒素芳香族化合物と含酸素ヘテロ環化合物の連結反応の開発

含窒素および含酸素複素環は、医薬品の最も重要な構成成分の 1 つである。そのため、2 種類の複素環のカップリング反応の開発は、薬理学的に重要な分子の新しい化学空間を探索するために大きな関心を集めてきた。しかし、 sp^3 炭素に富んだ高酸化度の含酸素ヘテロ環と含窒素複素環を連結できる例は限られており、高温、高エネルギーの光、強力な酸化剤などの厳しい条件も必要である。我々は、穏和な中性条件下進行する脱カルボニル型ラジカル付加反応を応用し、高酸化度ヘテロ環の連結反応の実現を目指した。

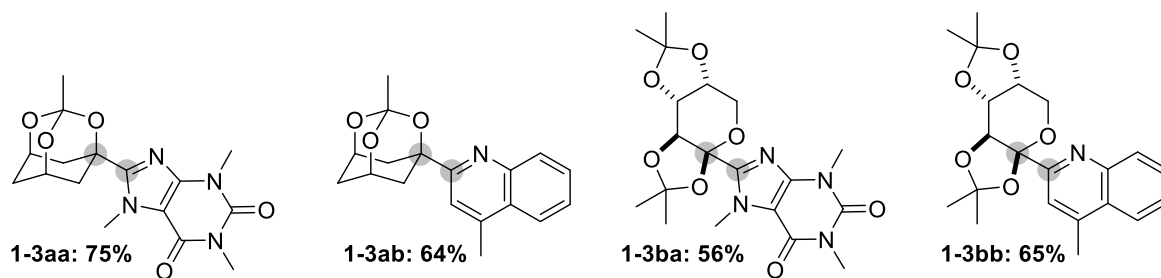
α -アルコキシまたは α -アルコキシアシルテルリド **1-1a,b** に対して、酸素存在下、 Et_3B を作用させると、 α -アルコキシラジカル **A** が生じる。**A** は、プロトン化により求電子性を高めた含窒素芳香族化合物 **1-2** の C=N 二重結合と反応し、ラジカルカチオン中間体 **B** を形成する。続いて、系中に存在するオキシラジカル種 **Y** が **B** から水素を引き抜き、芳香環を再生する。最後に、**C** の脱プロトン化により、連結体 **1-3** が得られる。



Scheme 1-1. Plan for application of radical addition to N-heteroarenes and proposed mechanism of oxidative rearomatization.

実際の研究成果の一部を Scheme 1-2 に示した。いずれの組み合わせにおいても、ラジカル付加反応および系中での再芳香族化が一挙に進行し、両環の連結体を与えた。特に、カフェイン(**1-2a**)やレピジン(**1-2b**)を用いることで、反応を位置選択的に良好な収率で進行させることに成功した。本手

法は、穏和な条件下で、含酸素複素環と含窒素芳香環間の $C(sp^3)-C(sp^2)$ 結合の形成を可能にするものである。



Scheme 1-2. Installation of O-heterocycles to N-heteroarenes.

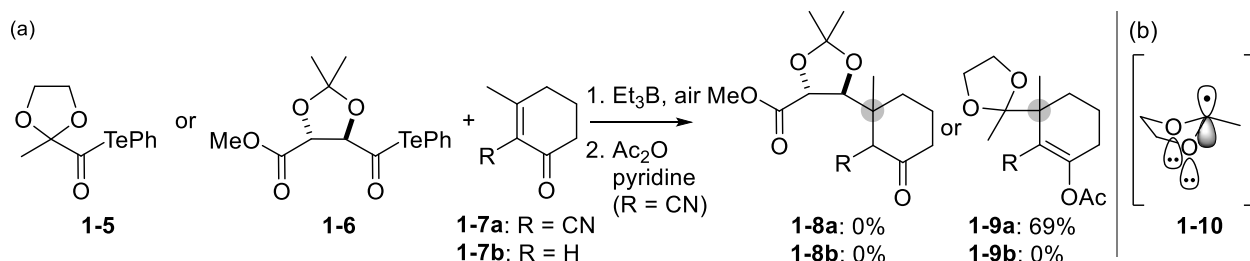
1-2. α -ジアルコキシアシルテルリドを用いた第四級炭素構築法の開発および 5-エピ-オイデスム-4(15)-エン-1 β ,6 β -ジオール(**1-4**)の全合成

昨年までに開発した有機テルリドの求電子オレフィンへの脱カルボニル型ラジカル付加反応では分子間反応によってカルボニル β 位に第三級炭素は構築できるものの、第四級炭素を構築することは出来なかった。そこで我々は、新たなラジカル供与体と受容体の設計によるラジカル的第四級炭素構築法を開発した。さらに、開発した手法を応用し、抗 HIV 活性を示す天然物 5-エピ-オイデスム-4(15)-エン-1 β ,6 β -ジオール(**1-4**, Scheme 1-4)の全合成を達成した。

ラジカル付加による第四級炭素構築反応が進行するためには、ラジカル種の SOMO とラジカル受容体の LUMO の間のエネルギー準位差を縮小し、両者の相互作用を強くする必要がある。そこで、I. ラジカル種の SOMO エネルギー準位の上昇/II. エノンの LUMO エネルギー準位の低下の2つの方法を行った(Scheme 1-3a)。

I. α -ジアルコキシアシルテルリド **1-5** をラジカル供与体とした。**1-5** から発生する α -ジアルコキシ炭素ラジカル **1-10** は、隣接する2つの酸素原子の電子供与を受け、SOMO のエネルギー準位が、 α -モノアルコキシ炭素ラジカルに比して上昇すると予想した(Scheme 1-3b)。

II. 2つの電子求引基(カルボニル基、シアノ基)を有する **1-7a** をラジカル受容体とした。

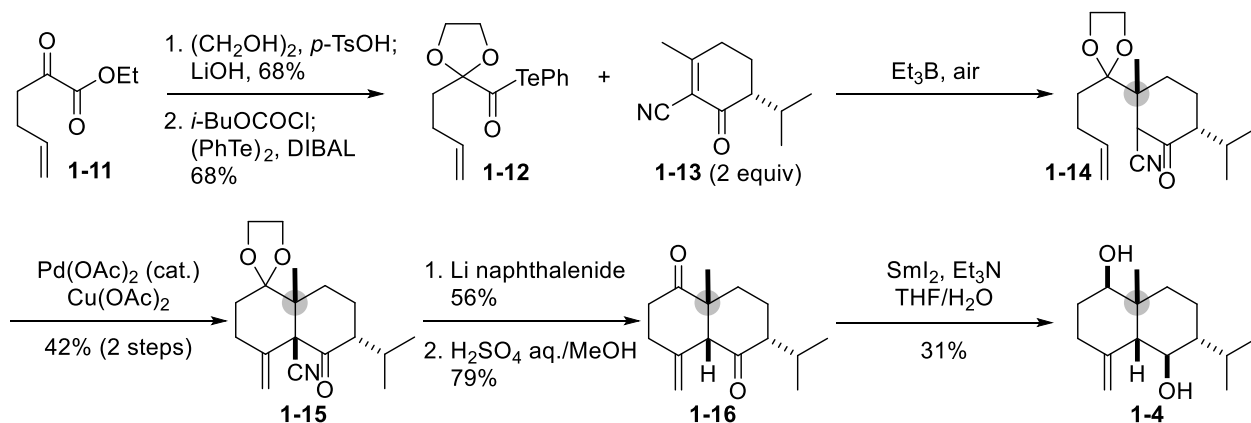


Scheme 1-3. Intermolecular construction of quaternary carbon centers.

検討の結果、酸素存在下 Et_3B の作用により **1-5** から生じた **1-10** が **1-7a** への分子間ラジカル付加反応を起こし、アセチル化の後に第四級炭素を有する **1-9a** を高収率で与えた。一方、方法Iのみ(**1-5**+**1-7b**)、方法IIのみ(**1-6**+**1-7a**)の場合や、方法I/IIを用いない場合(**1-6**+**1-7b**)は、いずれも付加反応が進行せず、第四級炭素の構築に至らなかった。これらの結果から、方法IとIIの双方がラジカル的第四級炭素構築に必須であることを見出した。

次いで、本法を天然物 **1-4** の迅速な全合成へと応用した(Scheme 1-4)。すなわち、市販のケトエス

テル **1-11** から環状アセタール形成および加水分解を経てカルボン酸を合成した。続いて、活性エステルを経由したテルリド化で、ラジカル供与体 **1-12** とした。先に確立した脱一酸化炭素を伴う分子間ラジカル付加反応を **1-12** と別途ピペリトンから 2 工程で調製したエノン **1-13** に対して適用した結果、反応は円滑に進行し、第四級炭素を有する付加体 **1-14** を得た。続く **1-14** の遷移金属触媒を用いた環化反応で、*cis*-縮環構造 **1-15** を得た。**1-15** のシアノ基を還元的に除去し、得られた *cis*-デカリンを脱アセタール化してジケトン **1-16** とした。最後に **1-16** の 2 つのカルボニル基を H₂O 存在下、SmI₂ で一挙に還元し、総 7 工程で 5-エピ-オイデスム-4(15)-エン-1 β ,6 β -ジオール(**1-4**)の収束的全合成を達成した。



Scheme 1-4. Convergent total synthesis of 5-epi-eudesm-4(15)-ene-1 β ,6 β -diol (**1-4**).

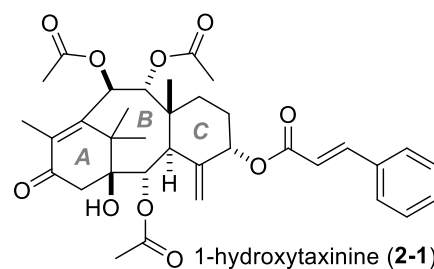
本収束的合成法では、化学的に安定な炭素ラジカル供与体として、 α -アルコキシアシルテルリドを設定したことで、室温かつ中性という極めて穏和な条件下 C-C 結合形成が進行する。今回開発した手法と既存の合成化学的手法を組み合わせれば、核間に第四級炭素を持つ多環式テルペノイドの斬新かつ実践的な合成戦略を立案することができる。これは取りも直さず、生物活性物質や機能性材料など全ての有用有機化合物の合成化学的供給に貢献できることを意味する。

2. 生物活性天然物の全合成研究

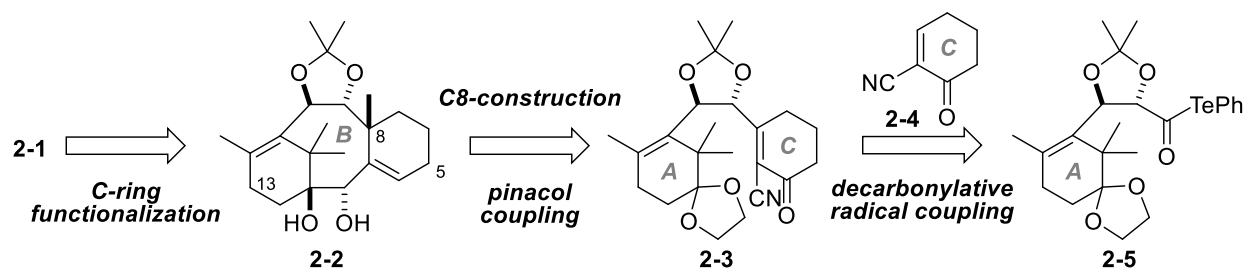
我々は高度に酸化された炭素環を持つテルペノイド、ステロイドおよびポリケチドを標的とし、全合成効率化を目的とした研究を遂行している。全合成研究における課題設定は、環状構造に様々な置換基を持つ化合物群に対する統一的かつ短工程合成法の開発である。本年は、顕著な細胞毒性を有する複雑天然物 1-ヒドロキシタキシニンの収束的全合成を達成した。また、電位依存性カリウムチャネル阻害活性を示す複雑天然物タラチサミンの全合成を達成した。以下にその詳細を示す。

2-1. 1-ヒドロキシタキシニンの全合成

1-ヒドロキシタキシニン(**2-1**)は、イチイ科の植物(*Taxus cuspidata*)から単離された天然物であり、マウス白血病細胞やヒト扁平上皮がん細胞に対して細胞毒性を示す。**2-1** は 6/8/6 員環が特異に縮環したタキサン骨格が、6 つの酸素官能基および橋頭位オレフィンで修飾された構造を有する。我々はタキサンジテルペンの統一的全合成を目指し、2 つのラジカル反応を鍵とする **2-1** の収束的全合成研究を遂行

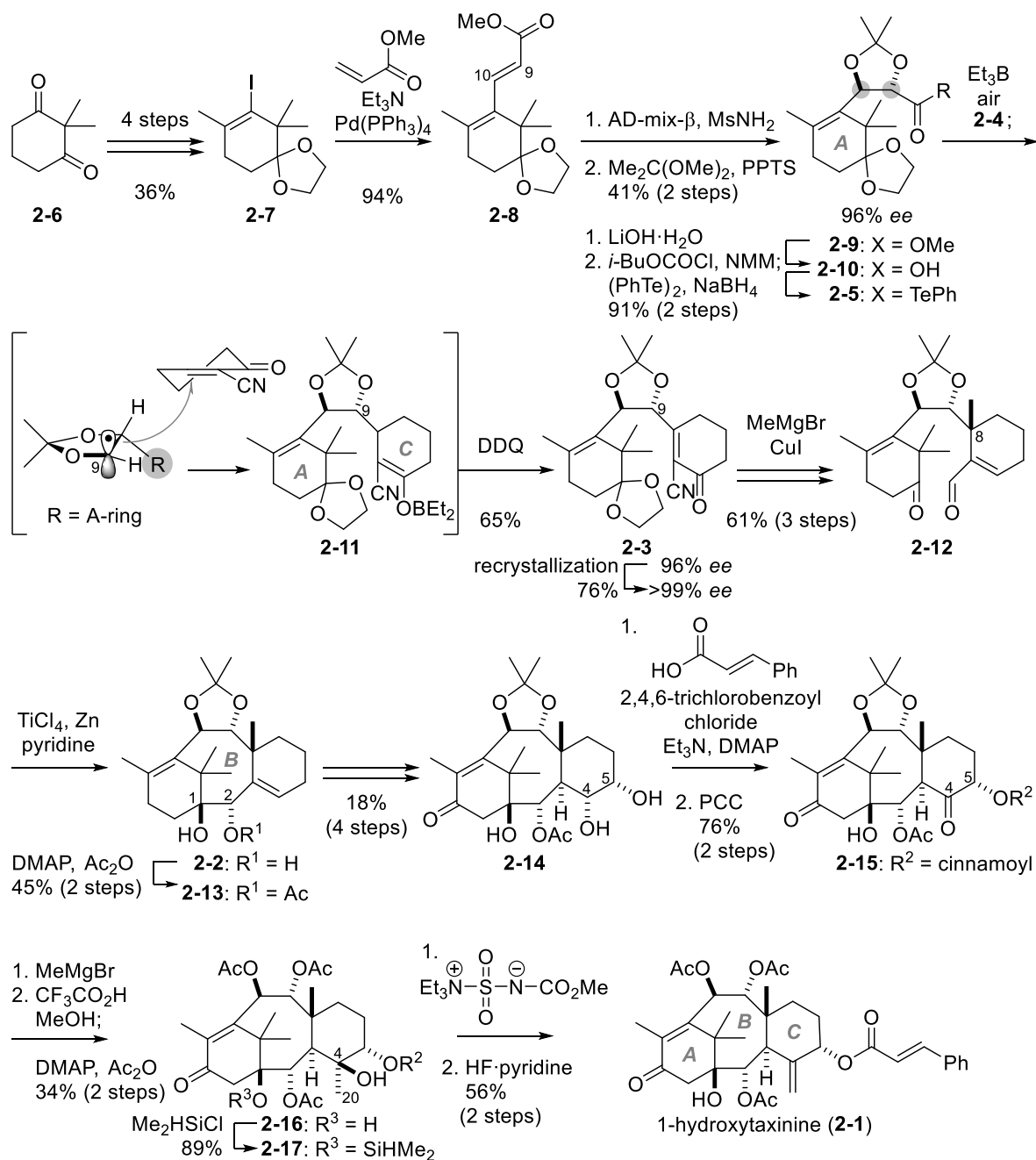


した。



Scheme 2-1. Synthetic plan of 1-hydroxytaxinine (2-1).

2-1 の逆合成解析を Scheme 2-1 に示した。2-1 の C5 位および C13 位酸素官能基をアリル位酸化により導入することとし、2-1 をジオール 2-2 へ逆合成した。B 環 8 員環部はピナコールカップリングで形成することとし、C8 位の第四級炭素は 2-3 のエノン足掛かりとして構築する。A,C 環部位を有する 2-3 はシクロヘキサノン誘導体 2-4 とアシルテルリド 2-5 を用いた脱一酸化炭素を伴うラジカルカップリング反応で収束的に合成する。



Scheme 2-2. Total synthesis of 1-hydroxytaxinine (2-1).

まず、ジケトン **2-6** からアシルテルリド **2-5** を 9 工程で合成した (Scheme 2-2)。**2-6** から 4 工程の化学変換で得られるヨージド **2-7** に対してアクリル酸メチルとの Heck 反応を行い、ジエン **2-8** を合成した。**2-8** に対する Sharpless 不斉ジヒドロキシ化反応は二置換オレフィン選択的に進行し、所望の C9,10 位に立体選択的に 2 つの酸素官能基が導入された光学活性なジオールを与えた。生じたジオールをアセトニドで保護することでエステル **2-9** (96% ee) を得た。続く加水分解反応でカルボン酸 **2-10** とした後、活性エステルを経由したテルリド化で A 環部に相当するアシルテルリド **2-5** を合成した。

続いて、A,C 環フラグメントのカップリングを行った。C 環部 **2-4** 存在下、**2-5** に対して空気雰囲気下 Et₃B を作用させると、脱一酸化炭素を伴うラジカルカップリング反応が進行し、C9 位立体

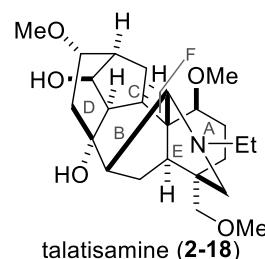
選択的に A,C 環連結体 **2-11** が得られた。本反応の立体選択性は嵩高い A 環部と **2-4** の立体反発を避けるようにラジカル付加反応が進行したために発現したと考えられる。生じたボロンエノラート **2-11** に対するワンポットでの DDQ 酸化でエノン **2-3** へと導いた後、再結晶を行い光学的に純粋な **2-3** を得た。続く、**2-3** からの C8 位第四級炭素構築を含む 3 工程の変換でケトアルデヒド **2-12** を合成した。

最後に、B 環形成と C 環部の官能基化を経て、**2-1** の全合成を達成した。**2-12** に対し、低原子価チタンを作用させると、立体選択的なピナコールカップリングによる B 環形成が進行し、ジオール **2-2** が得られた。すなわち、本反応では 8 員環を形成しながら 2 つの立体中心(C1,2)を一挙に構築できた。ここまで、総 14 工程でタキサン骨格の ABC 環を構築した。続いて、**2-2** をアセチル化して **2-13** を得た後、位置選択的なアリル位酸化を含む 4 工程の変換で、立体選択的にトリオール **2-14** を合成した。**2-14** をエステル化の条件に付すと、最も立体的に空いている C5 位選択的なエステル化が進行し、次いで C4 位二級アルコールを PCC で酸化しケトン **2-15** を合成した。この C4-ケトン足掛かりとしてエキソオレフィンを導入した。まず **2-15** に対し Grignard 試薬を用いてメチル基を化学および立体選択的に導入した。脱水前に、C9,C10-ジオールのアセトニド基を、ワンポットで CF₃CO₂H/MeOH と Ac₂O で順次処理することにより、2 つのアセチル基に変換した。得られた **2-16** に対して直接 Burgess 試薬を作用させると C4 位ヒドロキシ基の脱水に先んじて、C1 位ヒドロキシ基の脱離を伴う A 環の縮小反応が進行した。この副反応を防ぐために、Me₂HSiCl とイミダゾールの存在下で、ジメチルシリルエーテルとして **2-16** の立体障害のある C1-OH を一時的に保護し、**2-17** とした。最後に Burgess 試薬を作用させ、続いて HF・ピリジンで処理することで目的の天然物 1-ヒドロキシタキシニン(**2-1**)の全合成を達成した。

以上のように、我々は 2 つのラジカル反応を基軸として、**2-1** の全合成を総 26 工程で達成した。まず、官能基許容性の高いラジカル反応を用いて高度に官能基化された A,C 環ユニットを連結した。また、ラジカル種の高い反応性を利用し、困難な立体選択的 8 員環形成を達成した。本成果により、天然物合成における収束的ラジカル合成戦略の有用性を実証した。

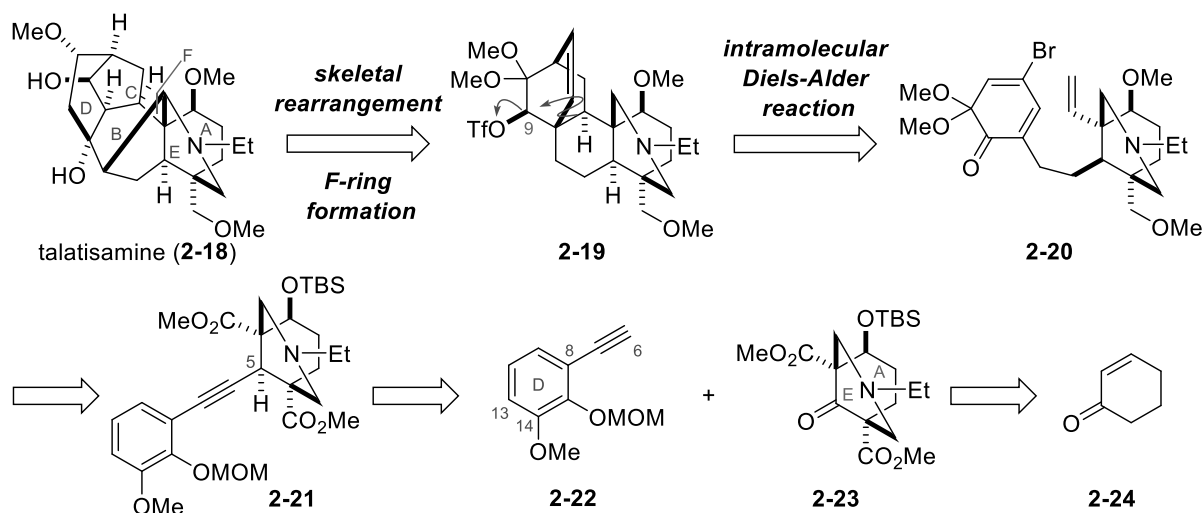
2.2. タラチサミンの全合成

タラチサミン(**2-18**)は、電位依存性カリウムチャネル阻害活性を示す C19 ジテルペンアルカロイドである。その構造は極めて複雑であり、高度に縮環した 6 環性骨格上に、3 個の四置換炭素を含む 12 個の連続する不斉中心を有する。そのため、**2-18** 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。C19 ジテルペンアルカロイドの合成研究はこれまで盛んに行われてきたが、**2-18** の全合成は一例のみが報告されている。我々は、C19 ジテルペンアルカロイドの生合成仮説として提唱されている、骨格転位反応を応用したタラチサミン(**2-18**)の全合成を達成した。以下に、詳細を述べる。



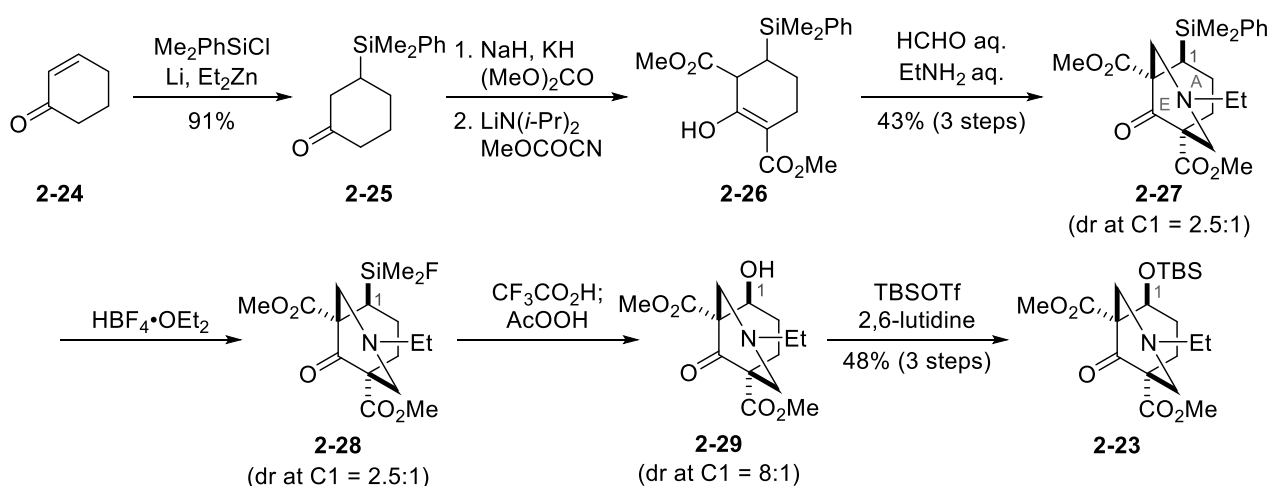
2-18 の合成計画を Scheme 2-3 に示す。**2-18** の F 環は、渡環反応により合成終盤に構築することとした。生合成仮説を応用することで、**2-18** が有する 7/5/6 員環(BCD 環)は、ビシクロ[2.2.2]オクテンの骨格転位によって構築できると予想し、C9 位に脱離基を有する **2-19** を鍵中間体に設定した。ビシクロ[2.2.2]オクテン **2-19** は、**2-20** に含まれるオルトキノノンモノケタルとオレフィンの、分子内 Diels-Alder 反応によって効率的に合成できると考えた。**2-20** は、**2-21** のアルキンの水素添加と、フ

エノールの酸化的脱芳香族化によって得ることとした。**2-21**の芳香環およびアルキン部位は、アザビシクロ化合物**2-23**に対するアルキン**2-22**の付加により、一挙に導入する。**2-23**は、シクロヘキセノン**2-24**から連続 Mannich 反応により合成する計画を立てた。



Scheme 2-3. Retrosynthetic analysis of talatisamine (**2-18**).

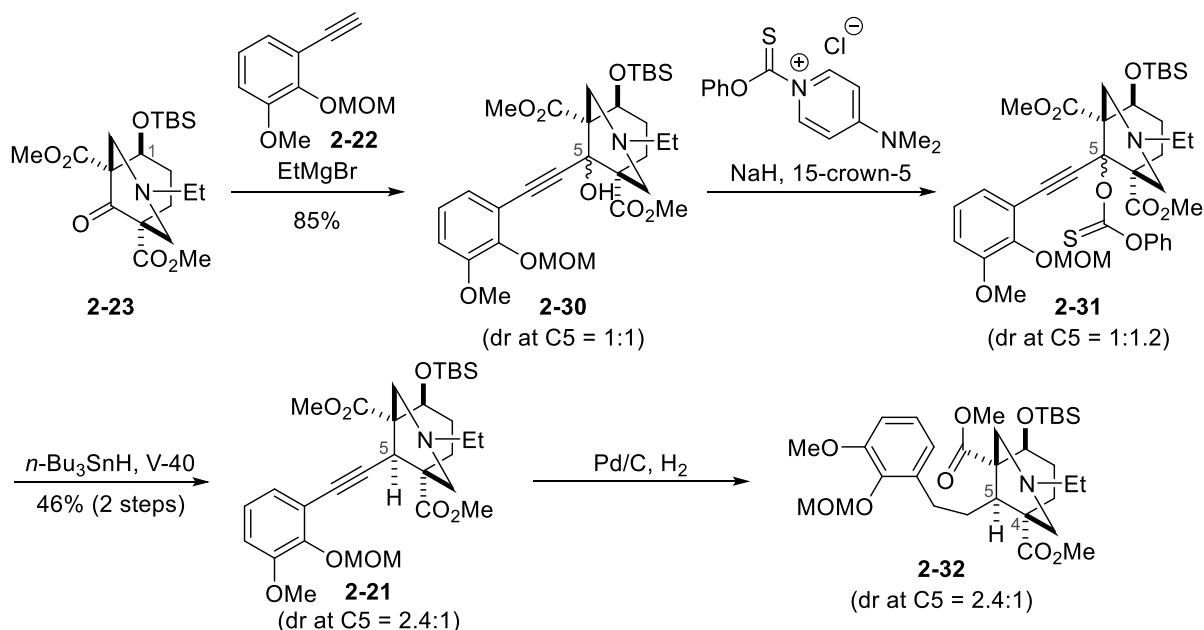
シクロヘキセノン**2-24**から、タラチサミン(**2-18**)の AE 環に対応するアザビシクロ化合物**2-23**を立体選択的に合成した(Scheme 2-4)。まず、**2-24**にシリル基を 1,4-付加し、既知のシリルケトン**2-25**へ導いた。**2-25**のケトン α 位にメトキシカルボニル基を導入し、**2-26**とした。次にホルマリンおよびエチルアミンを用いて Mannich 反応を行い、アザビシクロ化合物**2-27**を得た。**2-27**に含まれるフェニル基を、フッ素原子で置換した後、過酢酸を用いて Fleming-玉尾酸化を行った。生じた**2-29**の C1 位立体化学が原料**2-27**のジアステレオ比と異なることから、レトロアルドール反応により生じるカチオン中間体を経て、**2-29**が得られたと考察した。得られた**2-29**のヒドロキシ基を TBS 基で保護し、化合物**2-23**の立体選択的な合成を完了した。



Scheme 2-4. Stereoselective synthesis of AE-ring fragment **2-23**.

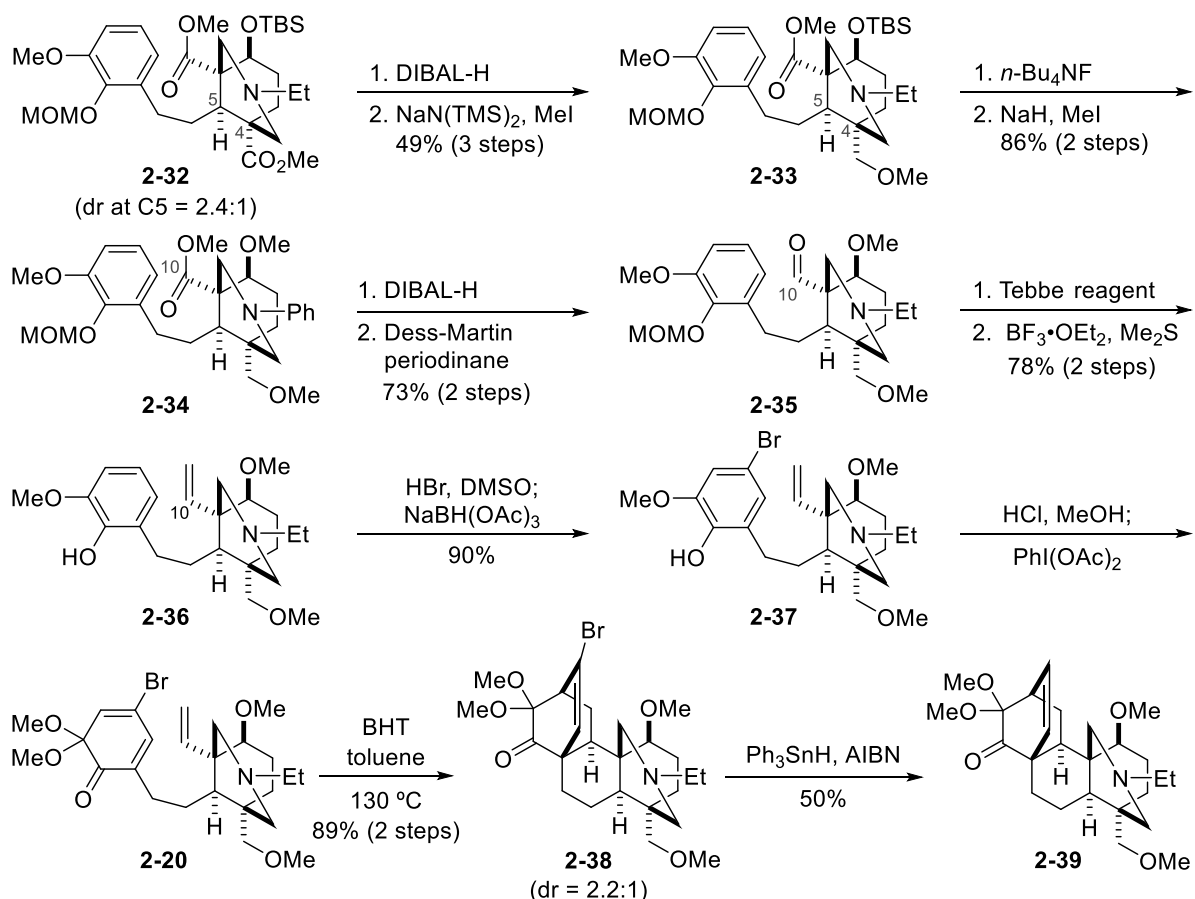
続いて、**2-23**に対し炭素鎖の導入を行った (Scheme 2-5)。まず**2-23**に対し、**2-22**から調製した Grignard 試薬の付加を行った。反応は 2 つのエステル存在下、ケトン選択的に進行し、**2-30**を与えた。得られた第三級アルコール**2-30**の脱酸素化を行うためチオカーボネート化を行い、**2-31**に変換

した。**2-31** をラジカル条件下水素化することで、C5 位に所望の立体化学を有する **2-21** を立体選択的に得た。最後に **2-21** のアルキンを接触水素化によって還元することで、3 環性化合物 **2-32** に変換した。



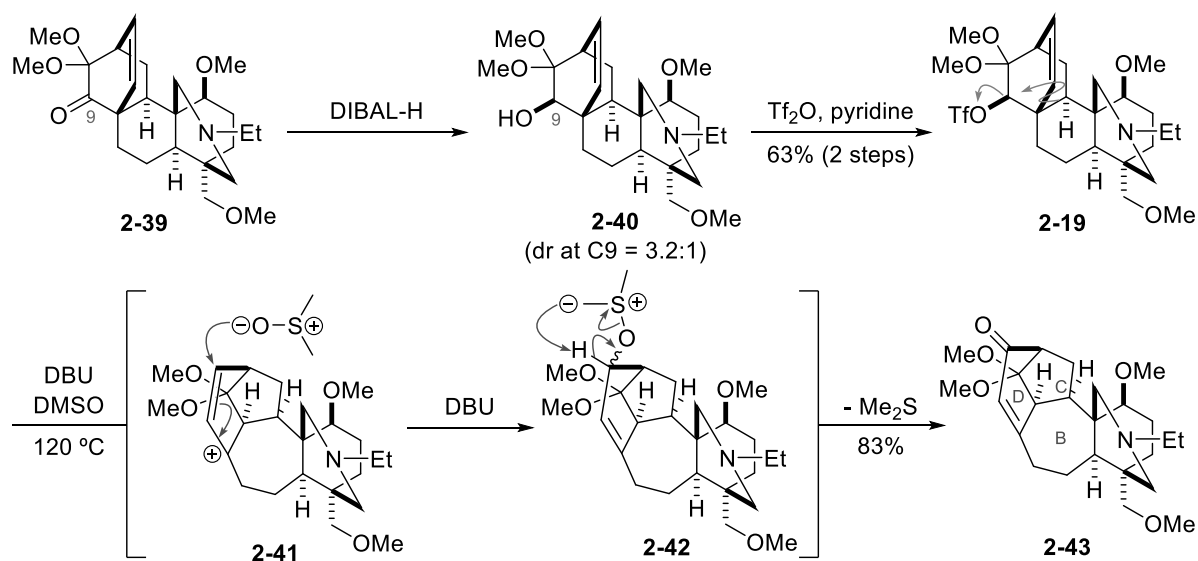
Scheme 2-5. Introduction of the carbon chain.

分子内 Diels-Alder 反応によりビシクロ[2.2.2]オクテン骨格を構築した (Scheme 2-6)。まず **2-32** に含まれる 2 つのエステルのうち、より立体的に空いている C4 位エステルを位置選択的に還元した。続いて生じた第一級アルコールをメチル化し、**2-33** を得た。次に **2-33** の TBS 基を除去した後、生じた第二級アルコールのメチル化を行い、**2-34** とした。その後 **2-34** のメトキシカルボニル基を還元した後、生じた第一級アルコールの Dess-Martin 酸化を行うことで、アルデヒド **2-35** へと導いた。**2-35** のアルデヒドを Tebbe 試薬によってオレフィン化した後、MOM 基の除去を行い、フェノール **2-36** を誘導した。続いてフェノールパラ位の位置選択的な臭素化を行い、**2-37** とした。**2-37** の第三級アミンの酸化を防ぐため、塩酸によってアンモニウム塩とした後、メタノール溶媒中 $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ を用いてフェノールの酸化的脱芳香族化を行い、オルトキノノンモノケタール **2-20** へ誘導した。**2-20** をトルエン中 130 度で加熱すると、分子内 Diels-Alder 反応が進行し、ビシクロ[2.2.2]オクテン構造を有する 5 環性化合物 **2-38** が立体選択的に得られた。**2-38** のブロモ基をラジカル的に除去することで、ビシクロ[2.2.2]オクテン構造を有する 5 環性化合物 **2-39** の合成を完了した。



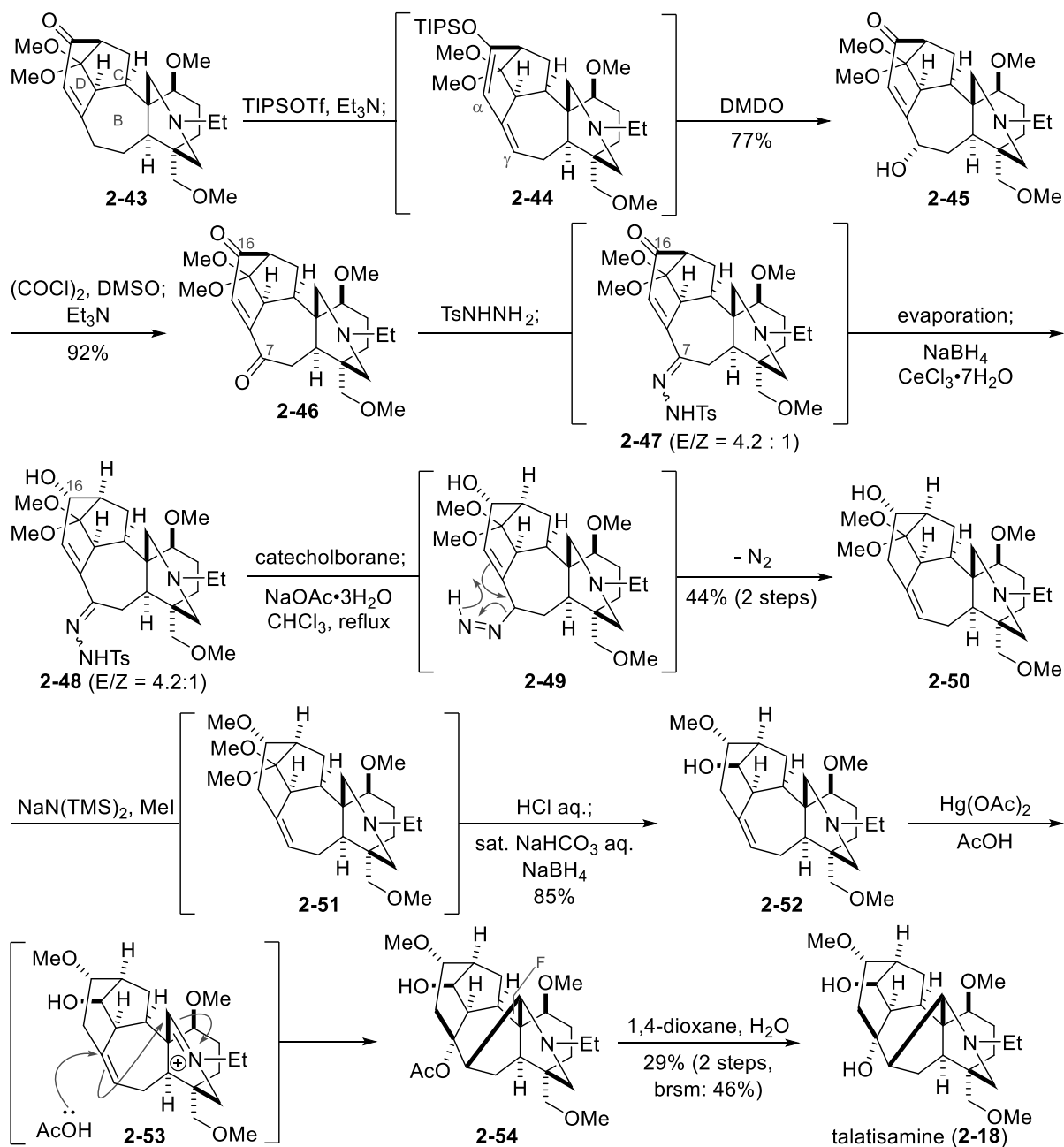
Scheme 2-6. Construction of bicyclo[2.2.2]octene **2-39** via the Diels-Alder reaction.

合成したビシクロ[2.2.2]オクテンの骨格転位を行い、タラチサミンの BCD 環を構築した(Scheme 2-7)。まず **2-39** のケトンを DIBAL-H によって立体選択的に還元した後、生じたヒドロキシ基をトリフラート化することで、骨格転位反応前駆体 **2-19** を合成した。DBU 存在下、**2-19** を DMSO 中 120 度で加熱したところ、トリフラートの脱離と共にビシクロ[2.2.2]オクテンの骨格転位反応と酸化が 一挙に進行し、**2-18** に含まれる 7/5/6 員環(BCD 環)をもつエノン **2-43** が高収率で得られた。本反応では、**2-19** から生じたカチオン **2-41** が溶媒として用いた DMSO によって捕捉され、スルホニウムイリド **2-42** から Me_2S の脱離を経て、**2-43** が生じたと考察した。



Scheme 2-7. Construction of BCD-ring via skeletal rearrangement.

続いて、タラチサミンの F 環を形成するため、エノン **2-43** に含まれるオレフィンの異性化を行った (Scheme 2-8)。まず、エノン **2-43** をシリルジエノールエーテル **2-44** に誘導した。DMDO を用いた **2-44** の酸化は位置・立体選択的に進行し、アルコール **2-45** を高収率で与えた。得られた **2-45** に対し Swern 酸化により、ジケトン **2-46** とした。続いて **2-46** の 2 つのケトンのうち、より立体的に空いている C7 位ケトン選択的なトシルヒドラゾン化を行い、**2-47** とした。その後、ヒドラゾン存在下 C16 位ケトンの立体選択的な Luche 還元により、**2-48** を誘導した。続いてカテコールボランを用いてトシルヒドラゾンの 1,2-還元を行った後、酢酸ナトリウム存在下クロホルム中加熱還流することで、**2-49** のジアゼン転位を進行させ、**2-50** を導いた。本手法により、複雑な 5 環性骨格に含まれるオレフィンの異性化を実現した。**2-50** に対してヒドロキシ基のメチル化、ジメチルアセタールの加水分解および生じたケトンの立体選択的な還元をワンポットで行うことで、**2-52** を高収率で得た。最後に酢酸溶媒中酢酸水銀を酸化剤に用いた Aza-Prins 型の環化反応により F 環を構築した後、導入されたアセトキシ基をヒドロキシ基に変換することで、タラチサミン (**2-18**) の全合成を達成した。



Scheme 2-8. Total synthesis of talatisamine (**2-18**).

本研究では、分子内 Diels-Alder 反応を利用することで、鍵中間体に設定したビスクロ[2.2.2]オクテン **2-19** を立体選択的に合成した。生合成仮説を応用した **2-19** の骨格転位は円滑に進行し、**2-18** の BCD 環の構築と、C16 位への酸素官能基の導入を一挙に実現した。**2-43** に含まれるオレフィン をジアゼン転位によって異性化させた後、F 環形成を行うことで、**2-18** の全合成を **2-24** から 33 工程で達成した。本合成法により、タラチサミン(**2-18**)の複雑な 6 環性骨格の効率的な構築を実現した。

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、抗菌活性天然物ライソシン E ならびに巨大ペプチド天然物ポリセオナミド B を基盤として研究を展開した。以下ライソシン E に関して詳細を述べる。

3-1. ライソシンEを基盤としたOBOCライブラリー構築と評価による新規抗菌類縁体の探索

生物活性天然物は、優れた機能や高い生体適合性を有することから、創薬基盤分子として古くから重要性が認識されている。その一方で、天然物そのものが薬として活用される例は限定的であり、多くの場合、天然物の構造をモチーフとして構造改変を行い、より優れた性質あるいは望みの性質を満たすための最適化を経て医薬品として用いている。一般的に、選択圧によって強力な生物活性を示す天然物よりも優れた性質を持つ化合物を合理的に設計することは決して容易ではなく、僅かな構造改変によって著しく生物活性が低下するもしくは消失する例には事欠かない。この意図に反した生物活性低下を防ぐためには、多数の構造類縁体合成と評価による十分なデータ蓄積が有効だが、有効な情報量を得るためには一般的に長大な期間と労力を要する。このような背景から、生物活性天然物の創薬応用への可能性をさらに拡大するためには、目的を満たす分子を迅速かつ効率的に得るための方法論の確立が求められる。

我々は、全合成を基盤とした天然物の機能解明および機能制御に関する研究を応用し、抗菌活性天然物であるライソシン E の類縁体で構成される one-bead-one-compound (OBOC) ライブラリーの構築と機能評価による新規類縁体創出を行った。

ライソシン E (**3-1**, Figure 3-1)は、多くの有用抗菌化合物を生産することで知られる *Lysobacter* 属細菌の培養上清から単離された環状デプシペプチド系天然物である。**3-1** は、院内感染がしばしば問題となるメチシリン耐性黄色ブドウ球菌(methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA)を含む様々なグラム陽性菌に対して強力な抗菌活性を有する。また、黄色ブドウ球菌 *S. aureus* 感染マウスモデルを用いた治癒活性試験では、MRSA 感染症の第一選択薬であるバンコマイシンよりも低濃度で治癒効果を示す。さらに、**3-1** は細菌細胞膜に存在し、電子伝達系に必須の補酵素であるメナキノン(MK)を標的とし、複合体形成により細胞膜を乱すという新規作用機序により抗菌活性を発現する。上記の顕著な治療効果と作用機序から、既存抗菌薬と交差耐性を生じない有望な抗菌シード化合物としての活用が期待される。

3-1 と同様の作用機序を有し、低濃度で顕著な効果を示す化合物の創出は、新規医薬品としての応用も期待できるため、極めて重要である。そこで我々は、顕著な抗菌活性を示す新規 **3-1** 類縁体の迅速かつ効率的な創出を目的として研究を展開した。

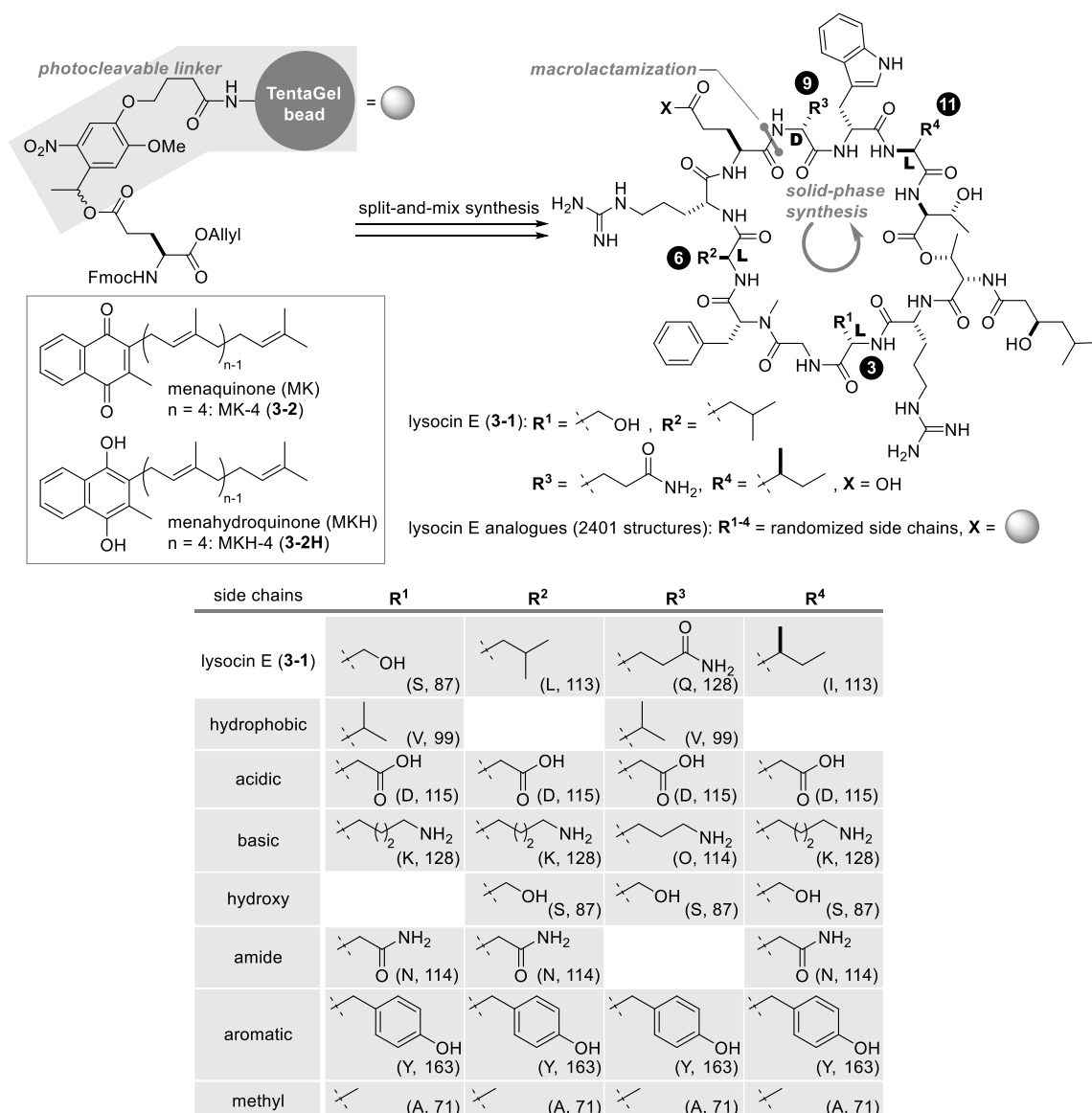


Figure 3-1. Structures of lysocin E and its analogues, MK-4, and MKH-4.

我々は、これまでに確立した **3-1** の固相全合成法に one-bead-one-compound (OBOC) 戦略を応用することで、迅速かつ効率的な新規抗菌類縁体の創出を目指した。OBOC ライブラリーとは、ある構成単位(ここではアミノ酸)が複数結合したオリゴマー分子に関して、それぞれの構成単位を split-and-mix 法によってランダムに変化させた類縁体が、ビーズに結合した状態の分子群を指す。OBOC ライブラリーにおいては 1 個のビーズが 1 種類の化合物を担持しているため、合成後にビーズを分離し、個別に評価することで、各類縁体の機能評価結果を得ることができる。なお、この評価は固相合成後に未精製で実施する。したがって、評価に対する化合物量の差および副生成物の影響を最小化するためには、類縁体間の合成収率のばらつきが少なく、かつ十分に高いことが求められる。そのため、通常のペプチドよりも複雑な構造を有し、合成調達が困難な **3-1** のような天然物に対する OBOC 戦略の応用例はほとんどなかった。

まず、評価対象とする OBOC ライブラリーを設計した。これまでの我々の十数種類からなる類縁

体群を対象とした小規模構造活性相関研究の結果に基づき、MK 認識および抗菌活性発現に重要なことが予想される残基および主鎖立体化学を保持し、それ以外の第 3、6、9 および 11 残基の側鎖構造を置換する計画を立てた。側鎖構造は、ライブラリー構成化合物の性質に多様性をもたらす目的で、物理化学的性質の異なる 7 種類を選択した(Figure 3-1)。この設計により、ライブラリーを構成する構造は $7^4 = 2401$ 種類となる。なお、MS/MS による構造決定のため、各側鎖に固有の質量を持たせるようライブラリー設計を行った(Figure 3-1、表の括弧内数値がユニットの質量)。

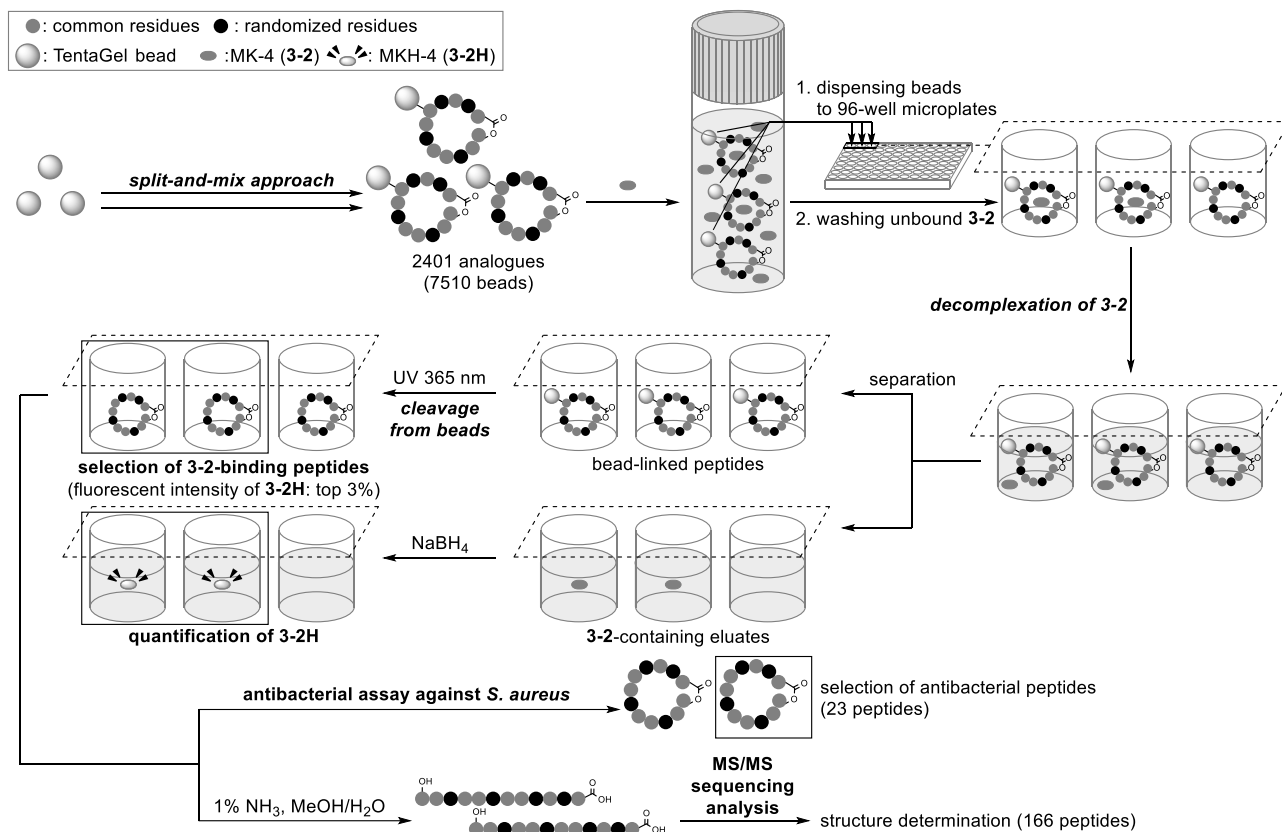


Figure 3-2. Synthesis and evaluation of lysocin E-based OBOC library.

続いて、ライブラリー合成を実施した。TentaGel ビーズに光分解性リンカーを介して側鎖を担持した Fmoc 保護グルタミン酸を出発物質とし、split-and-mix 法を組み合わせた Fmoc 固相合成によるペプチド鎖の伸長、マクロラクタム化および側鎖の脱保護を遂行した。その結果、第 3、6、9 および 11 残基側鎖を表(Figure 3-1)に示した構造でランダム改変した 2401 種類からなる極めて微量(0.1–0.6 マイクログラム相当)の 3-1 類縁体群を、7510 個の樹脂ビーズとして合成した(Figure 3-2)。

上述のとおり、1 個の樹脂が保持する化合物量は 1 マイクログラム未満であるため、化合物の機能評価には高感度な方法を要する。ここでは、2 段階評価系により、強力な抗菌活性を発現する類縁体を迅速に選択する方法論を新たに構築した(Figure 3-2)。まず、3-1 と MK が複合体を形成する性質を利用し、MK 親和性を示す類縁体を選出した。すなわち、ビーズに光分解性リンカーを介して結合した 3-1 類縁体群に関して、マイクロプレート上で MK-4 (3-2)の溶液を作用させ、ビーズ上の類縁体と複合体形成した微量の 3-2 を溶出後、NaBH₄を用いて蛍光性の MKH-4 (3-2H)へと還元し、蛍光強度を測定した。この測定結果に基づき、3-1 と同様の MK 結合能を示すことが期待される 3-2H

の蛍光強度上位 3%のピーズを選出した。続いて、ピーズに 365 nm の紫外光を照射することで、ペプチドーピーズ間のリンカーを切断し、遊離の環状ペプチド群を得た。まず、これらを MS/MS による構造決定に供した。通常、環状ペプチドの MS/MS は複雑なフラグメンテーションパターンを与えるため、構造決定を困難にする。そのため、**3-1** 類縁体を塩基性条件下、エステル結合選択的に加水分解し鎖状ペプチドへと変換することで、MS/MS による容易な構造決定を可能とした。結果として、**3-2H** の蛍光強度上位 3%のピーズに結合した類縁体は、166 化合物に該当することがわかった。また、これらを *S. aureus* に対する抗菌活性試験に付し、顕著な抗菌活性を示した 23 化合物を詳細な機能評価対象として選択した。なお、構造決定により、23 化合物の中には天然物である **3-1** も含まれていることが分かった。この事実により、我々のライブラリー合成ならびに 2 段階能評価系が有効に機能したことを示すことができた。

さらに、選択した類縁体をさらに詳細な機能評価に付すために、22 類縁体をミリグラムスケールで合成した。その結果、11 の新規類縁体 **A1–A11** (Figure 3-3)が、黄色ブドウ球菌 *S. aureus* (MSSA1) に対して天然物 **3-1** と同等あるいはより強力な抗菌活性を示すことがわかった。また、**A1–A11** は **3-1** と同様のグラム陽性菌に対する抗菌スペクトルを示し、MK 含有リポソームを用いた膜破壊活性試験では、全ての類縁体が MK 依存的な活性を示した。以上より、**A1–A11** が **3-1** と同様の作用機構で抗菌活性を発現することが強く示唆された。

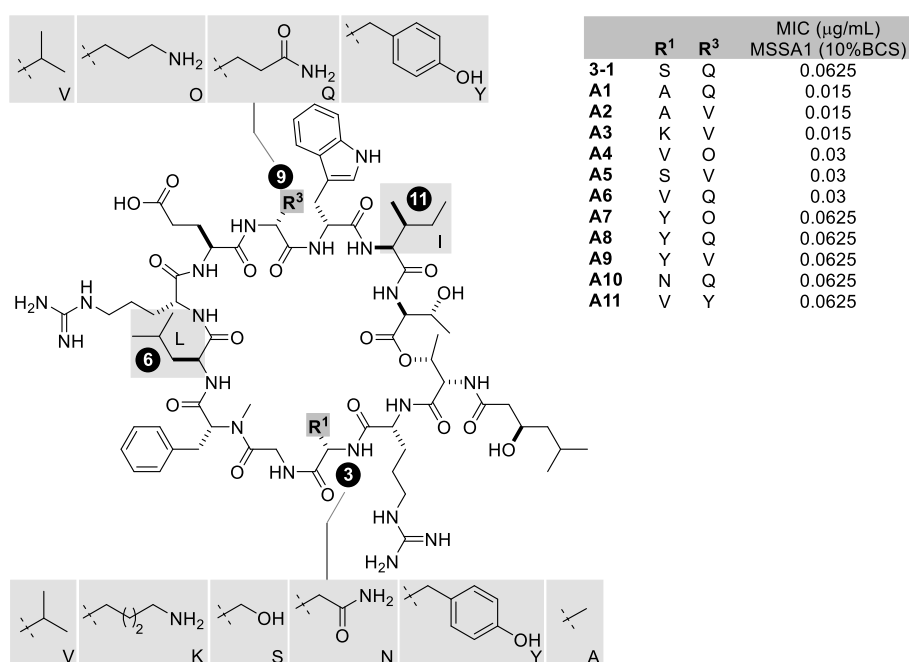


Figure 3-3. Structures of analogues **A1–A11**.

選出された新規類縁体群の構造を比較することで、これまで実施してきた十数種類のライソシン E 類縁体合成と評価では得ることが不可能だった大規模な構造機能相関データが今回初めて得られた。まず、全ての類縁体で天然物 **3-1** の持つ第 6 残基ロイシンおよび第 11 残基イソロイシンが保存されており、これらの 2 つの疎水性アミノ酸が **3-1** の抗菌活性発現に重要であることが明らかになった。また、興味深いことに、最も強力な抗菌活性を示した **A1** と **3-1** との構造差異は、第 3 残基

の β -ヒドロキシ基の有無のみであった。このように天然物の僅かな構造変化と活性に対する影響を予め正確に想定し、類縁体を創出・評価することは従来法では困難であり、OBOC 戦略の全合成法への応用によって初めて実現が可能になった。以上より、OBOC 戦略の **3-1** への応用は、目的の活性増強ならびに分子機能に対する精密な構造要件解明に極めて有効であることを示した。

本研究では、**3-1** の固相全合成を基盤とした OBOC 戦略により、天然物よりも優れた抗菌活性を示す類縁体を複数見出すことに成功した。本研究で提示した一連の戦略は、固相全合成と機能評価が直結しており、原理的には固相合成可能な分子に適用可能であるため、多様な生物活性を示すペプチド系天然物の応用可能性を拡大する方法論の一つとして、さらなる展開が期待される。

学 術 論 文

- 1) Y.-W. Xue, A. Hayata, H. Itoh, M. Inoue, “Biological Effects of a Simplified Synthetic Analogue of Ion-Channel-Forming Polytheonamide B on Plasma Membrane and Lysosomes,” *Chem. Eur. J.* **2019**, 25, 15198-15204.
- 2) E. O. Balogun, D. K. Inaoka, T. Shiba, C. Tsuge, B. May, T. Sato, Y. Kido, T. Nara, T. Aoki, T. Honma, A. Tanaka, M. Inoue, S. Matsuoka, P. A. M. Michels, Y.-I. Watanabe, A. L. Moore, S. Harada, K. Kita, “Discovery of Trypanocidal Coumarins with Dual Inhibition of Both the Glycerol Kinase and Alternative Oxidase of *Trypanosoma brucei*,” *FASEB J.* **2019**, 33, 13002-13013.
- 3) D. Kuwana, M. Nagatomo, M. Inoue, “Total Synthesis of 5-epi-Eudesm-4(15)-ene-1 β ,6 β -diol via Decarbonylative Radical Coupling Reaction,” *Org. Lett.* **2019**, 21, 7619-7623.
- 4) H. Itoh, K. Tokumoto, T. Kaji, A. Paudel, S. Panthee, H. Hamamoto, K. Sekimizu, M. Inoue, “Development of a High-Throughput Strategy for Discovery of Potent Analogues of Antibiotic Lysocine E,” *Nat. Commun.* **2019**, 10, Article number: 2992.
- 5) Y. Imamura, S. Yoshioka, M. Nagatomo, M. Inoue, “Total Synthesis of 1-Hydroxytaxinine,” *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, 58, 12159-12163.
- 6) D. Kuwana, B. Ovadia, D. Kamimura, M. Nagatomo, M. Inoue, “Installation of O-Heterocycles to N-Heteroarenes via an Et₃B/O₂-mediated Radical Reaction of α -Alkoxy and α -Alkoxyacyl Tellurides,” *Asian J. Org. Chem.* **2019**, 8, 1088-1091.
- 7) T. Shiba, D. K. Inaoka, G. Takahashi, C. Tsuge, Y. Kido, L. Young, S. Ueda, E. O. Balogun, T. Nara, T. Honma, A. Tanaka, M. Inoue, H. Saimoto, S. Harada, A. L. Moore, K. Kita, “Insights into the Ubiquinol/dioxygen Binding and Proton Relay Pathways of the Alternative Oxidase,” *Biochim. Biophys. Acta, Bioenerg.* **2019**, 1860, 375-382.
- 8) M. Nagatomo, Y. Fujimoto, K. Masuda, M. Inoue, “Construction of a 6/5/9-Membered Tricyclic Structure of Cladiellins via Radical-Polar Crossover Reaction,” *J. Antibiot.* **2019**, 72, 486-489.

総 説・著 書

- 9) H. Itoh, M. Inoue, “Full Solid-Phase Total Synthesis of Macrocyclic Natural Peptides Using

Four-Dimensionally Orthogonal Protective Groups,” *Org. Biomol. Chem.* **2019**, *17*, 6519-6527.

- 10) H. Itoh, M. Inoue, “Comprehensive Structure-Activity Relationship Studies of Macrocyclic Natural Products Enabled by Their Total Syntheses,” *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 10002-10031.
- 11) 占部大介, 井上将行, “生物活性カルデノリド類の収束的全合成” *有機合成化学協会誌* **2019**, *77*, 452-462.
- 12) 長友優典, “高酸化度天然物の全合成戦略の開発: 光化学的 C(sp³)-H 官能化を利用したラクタシスチン及びザラゴジン酸 C の全合成,” *YAKUGAKU ZASSHI* **2019**, *139*, 651-661.

受 賞

- 1) 井上将行, 第36回 井上学術賞
- 2) 井上将行, Tarrant Distinguished Visiting Professorship (University of Florida)
- 3) 長友優典, The Thieme Chemistry Journals Award 2019
- 4) 長友優典, Chemist Award BCA 2019
- 5) 薛賛唯(修士課程2年), “ポリセオナミド模倣ペプチドの作用解析,” 日本薬学会第139年会学生優秀発表賞
- 6) 島川典(修士課程2年), “プベルリンCの全合成研究,” 日本薬学会第139年会学生優秀発表賞
- 7) 廣瀬哲(博士課程2年), “Study toward Unified Total Synthesis of Tiglane and Daphnane Diterpenes,” The 1st International Symposium on Hybrid Catalysis for Enabling Molecular Synthesis on Demand Organic & Biomolecular Chemistry Poster Prize
- 8) 神谷光一(博士課程1年), “ヤクアミドBおよび幾何異性体の統一的固相全合成,” 第17回次世代を担う有機化学シンポジウム優秀発表賞
- 9) 桑名大輝(博士課程2年), “Installation of O-Heterocycles to N-Heteroarenes via Et₃B/O₂-mediated Radical Reaction of α -Alkoxy and α -Alkoxyacyl Tellurides,” 27th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress Poster Prize
- 10) 島川典(博士課程1年), “Synthetic Study of Puberuline C,” The 9th Junior International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia (JICCEOCA-9) Oral Presentation Award
- 11) 徳本皓太郎(博士課程2年), 加治拓哉(現東北大学助教), 伊藤寛晃, 井上将行, “ライソシンEを基盤としたOBOCライブラリー構築と評価による新規抗菌類縁体の探索,” 第37回メディスナルケミストリーシンポジウム優秀賞

招 待 講 演

- 1) M. Inoue, “Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products,” Department of Chemistry, University of South Florida, Tampa, FL, USA, November 25, 2019
- 2) M. Inoue, “Total Synthesis and Biological Evaluation of Peptide Natural Products,” (Tarrant Distinguished Visiting Professorship), Department of Chemistry, University of Florida, Gainesville, FL, USA, November 19, 2019
- 3) M. Inoue, “Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products (2),” (Tarrant Distinguished Visiting Professorship), Department of Chemistry, University of Florida, Gainesville, FL,

USA, November 19, 2019

- 4) M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products (1)," (Tarrant Distinguished Visiting Professorship), Department of Chemistry, University of Florida, Gainesville, FL, USA, November 18, 2019
- 5) M. Inoue, "Total Synthesis and Biological Evaluation of Structurally Complex Natural Products," Multidisciplinary Lecture Series in Life Sciences & Technology, The University of Tokyo, Tokyo, Japan, July 18, 2019
- 6) M. Inoue, "Total Synthesis and Biological Evaluation of Structurally Complex Natural Products," Summer Program, Nanoscience Part I: Biotechnology, The University of Tokyo, Tokyo, Japan, July 17, 2019
- 7) M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," 47th Naito Conference, C-H Bond Activation and Transformation, Sapporo, Japan, July 3, 2019
- 8) M. Inoue, "Development of a Strategy for Discovery of Superior Analogues of Antimicrobial Natural Products," The 26th American Peptide Symposium, Monterey, USA, June 26, 2019
- 9) M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," The 1st International Symposium on Hybrid Catalysis for Enabling Molecular Synthesis on Demand, Tokyo, Japan, May 31, 2019
- 10) M. Inoue, "Total Synthesis and Biological Evaluation of Complex Natural Products," (Pharmaron Lecture), Peking University Shenzhen Graduate School, Shenzhen, China, April 19, 2019
- 11) M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," Southern University of Science and Technology, Shenzhen, China, April 18, 2019
- 12) 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化," 日本薬学会関東支部 第 44 回学術講演会, 長井記念ホール, 東京都, 渋谷区, 2019 年 12 月 14 日
- 13) 井上将行, "ペプチド系天然物の合成・機能・活性," 第 37 回メディシナルケミストリーシンポジウム, いちょうホール, 東京都, 八王子市, 2019 年 11 月 29 日
- 14) 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, 2019 年 10 月 1 日
- 15) 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化," 第 31 回万有札幌シンポジウム, 北海道大学, 北海道, 札幌市, 2019 年 7 月 6 日
- 16) 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化," アステラス製薬株式会社 合成技術研究所, 茨城県, 高萩市, 2019 年 1 月 31 日
- 17) 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, 2019 年 1 月 19 日
- 18) 長友優典, 井上将行, " α -アルコキシ炭素ラジカル戦略による高酸化度天然物の全合成," 新学術領域中分子第 8 回研究成果報告会, 京都大学桂キャンパス船井哲良記念講堂, 京都府京都市, 2019 年 5 月 31 日
- 19) 長友優典, 井上将行, "1-ヒドロキシタキシニンの全合成," 第 9 回有機分子構築法夏の勉強会, 和光純薬工業湯河原研修所, 静岡県熱海市, 2019 年 5 月 12 日
- 20) H. Itoh, M. Inoue, "Design, Construction, and Screening of a One-Bead-One-Compound Library for

Discovery of Potent Analogues of Antibiotic Lysocin E,” The Fourth A3 Roundtable Meeting on Chemical Probe Research Hub, TKP Garden City PREMIUM Sendai Nishiguchi, Sendai, Japan, November 19, 2019

- 21) 伊藤寛晃, “複雑ペプチド系天然物の類縁体全合成を基盤とした機能解析,” 理研シンポジウム 高磁場・高感度 NMR 利活用促進のための天然物分野シンポジウム 2019, 理化学研究所 横浜キャンパス, 神奈川県, 横浜市, 2019 年 12 月 12 日
- 22) 伊藤寛晃, 徳本皓太郎, 加治拓哉, 井上将行, “One-bead-one-compound ライブラリー戦略を基盤とした抗菌ペプチド天然物ライソシン E の新規類縁体創出,” 第 13 回バイオ関連化学シンポジウム, 東北大学青葉山東キャンパス, 宮城県, 仙台市, 2019 年 9 月 6 日
- 23) 伊藤寛晃, 井上将行, “イオンチャネル形成巨大天然物ポリセオナミド B の固相全合成と機能解析,” 第 14 回トランスポーター研究会年会, 北海道大学薬学部, 北海道, 札幌市, 2019 年 7 月 20 日
- 24) H. Itoh, "Target Identification of Anticancer Natural Product Yaku'amide B," The Third A3 Young Scientist Meeting, 東北大学, 宮城県, 仙台市, 2019 年 2 月 22 日
- 25) 伊藤寛晃, “ヤクアミド B の標的タンパク質同定,” LiHub 創薬技術革新グループ ワークショップ 創薬関連研究の最先端, 小松屋八の坊, 静岡県, 伊豆の国市, 2019 年 2 月 16 日