

## ◆ 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)

**助 教**     **藤野 遥** (ふじの・はるか)

平成 26 年東京大学薬学部卒、平成 31 年同大学大学院薬学系研究科博士課程修了

前職：Yale 大学化学科 博士研究員、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

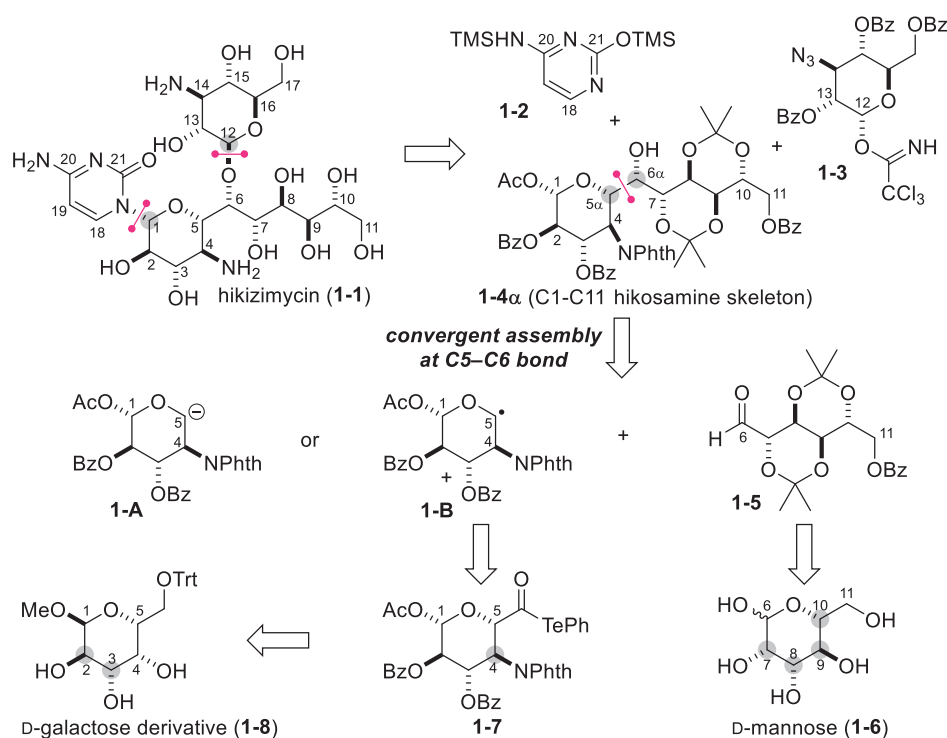
多数の極性官能基を含む天然物の合成を計画する場合、官能基をどのように組み込むか、分子の酸化度をどのように上げるかという、合成の成否を左右する重要な問題に直面する。往々にして合成標的分子特有の三次元構造に起因する、反応性・化学選択性・立体選択性などの制御に問題が生じる。それらを回避するために適切な保護基の利用が必須となり、一般的に工程数が著しく増大す

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、 $\alpha$ -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、 $\alpha$ -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  $\alpha$ -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発展させ、高酸化度アルコキシラジカルと高酸化度アルデヒドを連結する反応を開発した。さらに本法を用いて、ポリオール天然物ヒキジマイシン(**1-1**)の全合成を達成した。以下詳細を述べる。

### 1-1. アルデヒドへの分子間ラジカル反応の開発と核酸系抗生物質ヒキジマイシンの収束的全合成



**Scheme 1-1.** Retrosynthetic analysis of hikizimycin (**1-1**).

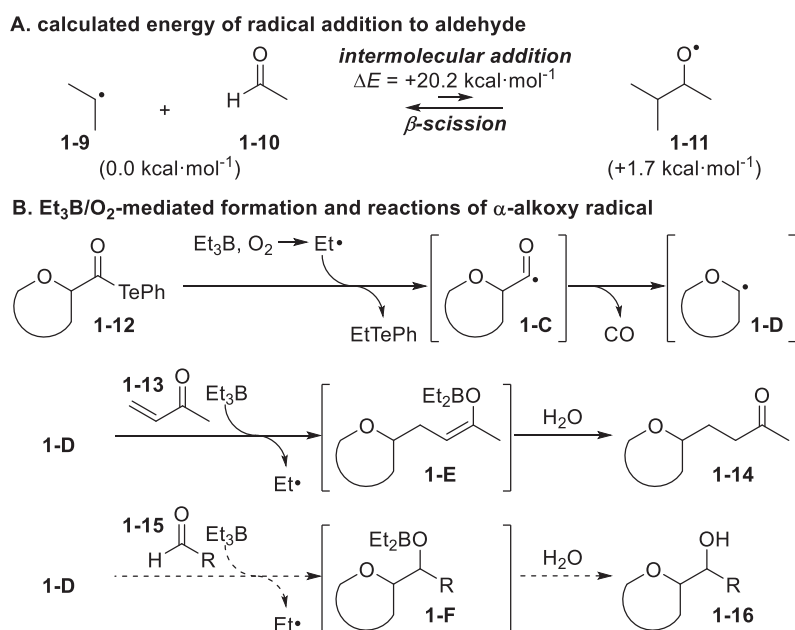
重要な生物活性を示す天然物には、高度にヒドロキシ化された非分岐炭素鎖(ポリオール構造)が部分構造として多く見られる。しかし、多くの酸素官能基が存在すると、利用できる C-C 結合形成反応の種類が大きく制限されるため、ポリオール構造の立体選択的な構築は未だ困難な課題である。我々は本課題の解決に向け、アルデヒドへの分子間ラジカル付加戦略の開発に着手した。

ヒキジマイシン(**1-1**, Scheme 1-1)は、*Streptomyces* A-5 より単離された核酸系抗生物質であり、抗菌・駆虫活性を示す。構造的な特徴として、C1, C6 位にそれぞれシトシンおよび3-デオキシ-3-アミノグルコース(C12-C17)がグリコシド結合した、10 連続不斉中心を有するヒコサミン部位(C1-C11)が挙

げられる。**1-1**の複雑な化学構造のため、これまでに報告された全合成は、27工程を要する Schreiber らによる1例のみにとどまる。我々は、未だ前例の乏しい、温和な中性条件下進行する炭素ラジカル**1-B**のアルデヒド**1-5**への分子間付加反応を鍵とする**1-1**の収束的な全合成を達成した。

逆合成解析を Scheme 1-1 に示す。**1-1**のシトシンおよび3-アミノ-3-デオキシグルコース部位は、TMS-シトシン**1-2**ならびに糖供与体**1-3**を用いて**1-4a**へ位置選択的に導入する。2回のグリコシル化の際に新たに生じる1 $\alpha$ , 12 $\beta$ の立体化学は、供与体としてそれぞれ作用する**1-4a**のC1位および**1-3**のC12位のアセタール隣接位であるC2, C13位上のベンゾイルオキシ基からの隣接基関与により制御できると期待した。第2級アルコール**1-4a**は、炭素アニオン**1-A**とアルデヒド**1-5**へと逆合成できる。しかし本アニオン条件下において、高度に複素官能基化された**1-A**からのN4-Phth基の $\beta$ 脱離や、多数の酸素官能基を有する**1-5**の損壊など、反応系の望まない複雑化が予想された。

一方、温和な中性条件下進行するラジカル反応は、酸素および窒素官能基に対して高い官能基許容性を示し、その高い反応性から、立体的に込み入った炭素-炭素(C-C)結合形成を容易にする。そこで我々は、炭素ラジカル**1-B**の**1-5**への分子間付加による高酸化度炭素骨格**1-4a**の構築を着想した。さらに炭素ラジカル**1-B**の前駆体として、 $\alpha$ -アルコキシアシルテルリド**1-7**を設計した。**1-5**および**1-7**は、D-マンノース(**1-6**)およびD-ガラクトース誘導体**1-8**よりそれぞれ合成する。**1-6**および**1-8**は、ヒコサミンの有する10個のうち6個の立体化学(C2, C3, C7-C10)を予め有する。そのため、ヒコサミン合成における官能基変換を最小限とする、**1-1**の短工程かつ収束的な全合成が達成できると予想した。

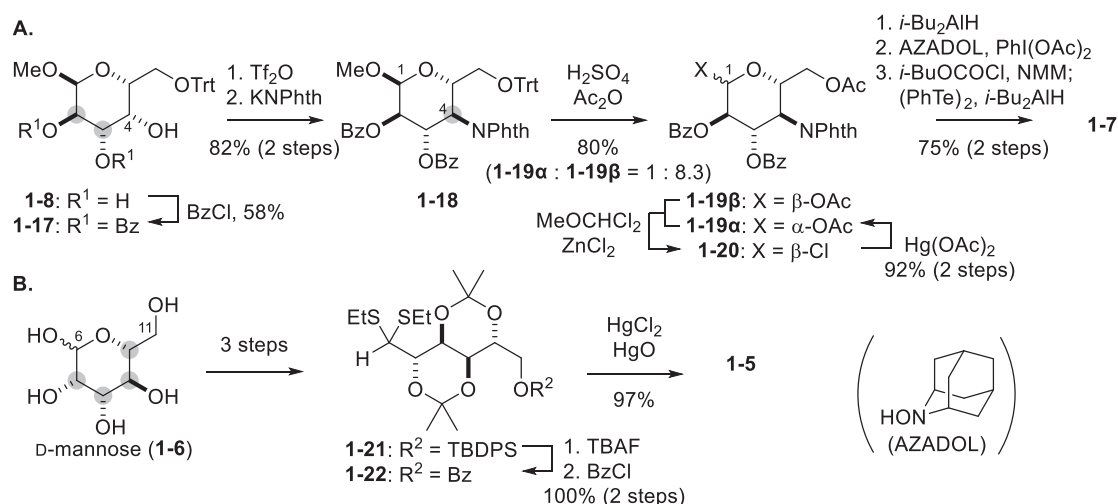


**Scheme 1-2.** The present strategy for challenging radical addition to aldehyde.

しかし、アルデヒドへの分子間ラジカル付加の実現は、極めて挑戦的である。これは、炭素ラジカル**1-9**とアルデヒド**1-10**の付加により生じるオキシラジカル中間体**1-11**が、原系よりエネルギー的に不安定であり、逆反応である $\beta$ 開裂が優先するためである(Scheme 1-2A)。

我々は既に、Et<sub>3</sub>B/O<sub>2</sub>存在下、 $\alpha$ -アルコキシアシルテルリド**1-12**を前駆体とする電子不足な炭素-炭素二重結合への分子間付加を開発している(Scheme 1-2B)。すなわち、Et<sub>3</sub>B/O<sub>2</sub>条件下生じるエチル

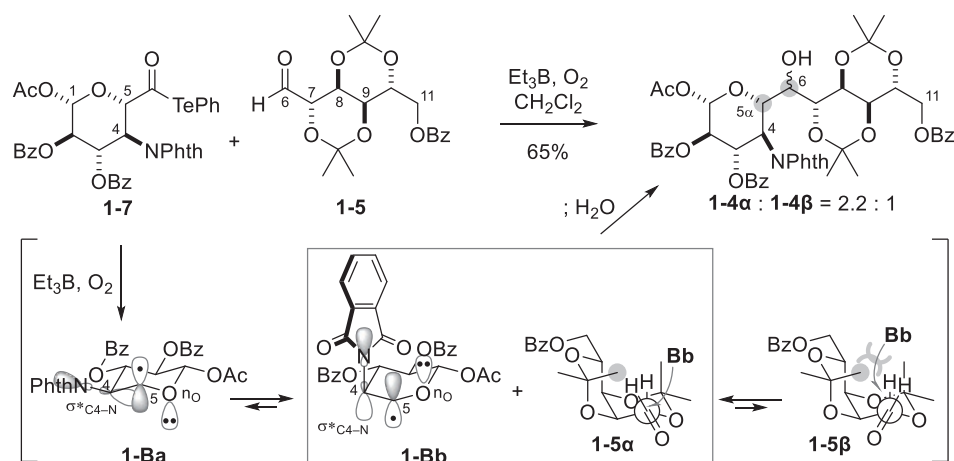
ラジカルが駆動する **1-12** の炭素–テルル結合の均等開裂によるアシルラジカル **1-C** の生成と、続く脱一酸化炭素を経て、 $\alpha$ -アルコキシ炭素ラジカル **1-D** が生じる。続いて、求核的な **1-D** の求電子的なエノン **1-13** への共役付加の後、生じたラジカル中間体が Et<sub>3</sub>B により捕捉されることで、エチルラジカルの放出と同時に、ホウ素エノラート **1-E** が生成する。**1-E** の後処理により、付加成績体 **1-14** が得られる。我々は、この Et<sub>3</sub>B が示すラジカル開始剤・捕捉剤としての二面性を利用することで、**1-D** のアルデヒド **1-15** への不可逆的な分子間付加の実現を着想した。つまり、ここで生じるホウ素アルコキシド **1-F** は安定であり、後処理によりアルコール **1-16** へと導けると予想した。



**Scheme 1-3. Preparation of 1-7 and 1-5.**

初めに、鍵反応のラジカル前駆体となる  $\alpha$ -アルコキシアシルテルリド **1-7** を得た(Scheme 1-3A)。トリオール **1-8** のうちエカトリアル配向の C2, 3 ヒドロキシ基を選択的にベンゾイル保護し、C4 アルコール **1-17** を得た。次いで、**1-17** のヒドロキシ基の S<sub>N</sub>2 反転を含む 2 工程の変換を経てフタルイミド **1-18** とした。**1-18** に硫酸存在下、無水酢酸を作用させ、メチル基とトリチル基のアセチル基への交換を経て、アシラール **1-19** を得た(1-19 $\alpha$  : 1-19 $\beta$  = 1 : 8.3)。本 C1 位立体異性体混合物 **1-19** を、クロロアセタール **1-20** を経る 2 工程の変換により、単一の立体化学を有するアシラール **1-19 $\alpha$**  へと導いた。ジアセテート **1-19 $\alpha$**  を低温条件下 *i*-Bu<sub>2</sub>AlH で処理することで、1 級アセチル基を選択的に除去した。得た 1 級アルコールを AZADO 酸化に付し、カルボン酸へと導いた。このカルボン酸をクロロギ酸イソブチルで処理し、混合酸無水物としたのち、(PhTe)<sub>2</sub> から還元的に別途調製したアルミニウムテルロレートを作用させ、 $\alpha$ -アルコキシアシルテルリド **1-7** を誘導した。

次に、アルデヒド **1-5** を合成した(Scheme 1-3B)。D-マンノースから 3 工程の変換により、既知のビスアセトニド **1-21** へと導いた。**1-21** の 1 級アルコール上の TBDPS 基を、2 工程で **1-22** のベンゾイル基へと変換した。最後にジチオセタール **1-22** を水銀塩存在下、加水分解に付すことで、アルデヒド **1-5** を得た。

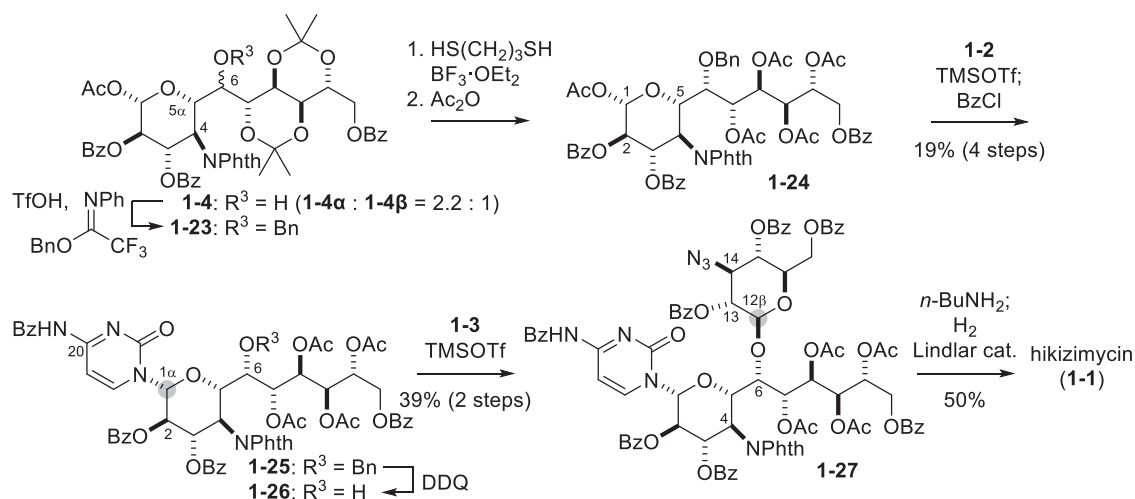


**Scheme 1-4.** Intermolecular radical addition of  $\alpha$ -alkoxyacyl telluride **1-7** and aldehyde **1-5**.

続いて、高度に酸素官能基化された  $\alpha$ -アルコキシアシルテルリド **1-7** を前駆体とする、アルデヒド **1-5** への分子間ラジカル付加を検討した(Scheme 1-4)。C1-C5 フラグメント **1-7**、C6-C11 フラグメント **1-5** および  $\text{Et}_3\text{B}$  の  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  溶媒中の混合物に対して酸素を作用させた。その結果、当初の作業仮説通りラジカル付加は円滑に進行し、所望の付加成績体である C6-アルコール **1-4α** を、副生成物の C6 位エピマーである **1-4β** との立体異性体混合物として、65%の合計収率で得た(**1-4α** : **1-4β** = 2.2 : 1)。以上のように、10 連続不斉中心を有する高度に酸化された C1-C11 ヒコサミン誘導体 **1-4α** を、立体選択的な C5( $\text{sp}^3$ )-C6( $\text{sp}^3$ )結合形成により一挙に構築することに成功した。

本反応の C5, C6 位立体選択性は、置換基同士の立体反発に起因すると推定される。 $\text{Et}_3\text{B}$  と酸素存在下、脱一酸化炭素を経て  $\alpha$ -アルコキシ炭素ラジカル **1-B** へと変換される際に、**1-7** の有する C5 位の立体化学は一旦失われる。テトラヒドロピラン環上の置換基同士の立体反発が最小化される、いす型 **1-Ba** に比して、ラジカル軌道と隣接する C4-N 結合の  $\sigma^*$  軌道との相互作用が最大化される、舟型 **1-Bb** がより安定である。この際、**1-Bb** 上の嵩高いフタロイル基が分子上面を遮蔽することで、反応が分子下面から進行し、C5 位の立体選択性が制御された。一方、ビスアセトニドを有するアルデヒド **1-5** への付加の段階においては、Felkin-Anh 様のモデルを用いることで **1-5α**、**1-5β** の 2 種の遷移状態が想定できる。このうち  $6\beta$  体を与える遷移状態 **1-5β** は、剛直な 6,6-シス縮環構造上に存在するメチル基との立体反発により、付加が妨げられる。そのため、**1-5α** からの反応が優先した結果、 $6\alpha$  立体選択性が発現した。すなわち、適切な **1-7**、**1-5** 上の保護基の組み合わせを用いることで、遷移状態の三次元構造が規定され、所望の立体選択性の発現につながった。





Scheme 1-5. Completion of the total synthesis of hikizimycin (1-1).

最後に、ラジカル付加により得たヒコサミン誘導体 **1-4 $\alpha$**  に対して TMS シトシン **1-2** およびアミノ糖 **1-3** を酸性条件でのグリコシル化により導入することで、**1-1** の全合成を達成した (Scheme 1-5)。まずグリコシル化に先立ち、**1-4 $\alpha$**  の O6-O11 位の保護基の変換を行った。すなわち、**1-4 $\alpha$**  の 6 位アルコールを Bn 基により保護し、ベンジルエーテル **1-23** とした。続いて、 $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$  触媒条件下 1,3-プロパンジチオールを用いることで、**1-23** の O7-O10 ビスアセトニド部位を、C1 アシラルールおよび C6 ベンジルエーテル存在下、化学選択的に除去した。生じたテトラオールを無水酢酸で処理し、ペンタアセテート **1-24** を得た。**1-24** に対して、TMSOTf 存在下、TMS-シトシン **1-2** を作用させることで、C1 位選択的な N-グリコシル化が進行し、シトシンが導入できた。生じた合成中間体の C20 位のアミンをベンゾイル基で保護することで、C1 $\alpha$ -ベンゾイルシトシン導入体 **1-25** を、単一の異性体として得た。次に、O6 位へのアミノ糖 **1-3** の導入に先立ち、**1-25** の O6 位上の Bn 基を、DDQ を用いて除去し、O6-アルコール **1-26** とした。**1-26** に対して、TMSOTf とトリクロロアセトイミデート **1-3** を用いる Schmidt グリコシル化を行うことで、所望の 12 $\beta$  体を有するヒキジマイシン保護体 **1-27** を主生成物として得た (**1-27** : C12-*epi*-**1-27** = 1.8 : 1)。2 個のグリコシル化反応は、様々な官能基を損なうことなく化学選択的に進行し、またベンゾイルオキシ基からの隣接基関与による高い C1 $\alpha$ , C12 $\beta$  立体選択性を示した。最後に、**1-27** 上の 12 個のアシル基を加溶媒分解により一挙に除去し、ワンポットでアジ基をアミンに加水素分解することで、**1-1** の全合成を達成した (最長 17 工程)。

以上のように、3 種の六炭糖 **1-8**, **1-6**, **1-3** および TMS-シトシン **1-2** を出発原料に用いる、高酸化度核酸系天然物 **1-1** の収束的な全合成を達成した。 $\text{Et}_3\text{B}$  と酸素による、アルデヒド **1-5** への新規かつ官能基許容性の高い分子間ラジカル付加を実現し、高度に酸素官能基化された **1-4 $\alpha$**  を合成した。本鍵反応により、余分な炭素鎖伸長および続く立体選択的な酸素官能基導入を回避し、合成ルートを簡略化した。さらに、ラジカル付加や 2 回のグリコシル化を含む一連の化学変換において、高度に酸化された反応中間体上の各複素官能基に対してそれぞれ適切な保護基を設計・配置することで、高い化学・位置・立体選択性を発現させた。温和なラジカル化学を利用する本合成戦略は、多様な高酸化度生物活性物質の全合成に展開できる。

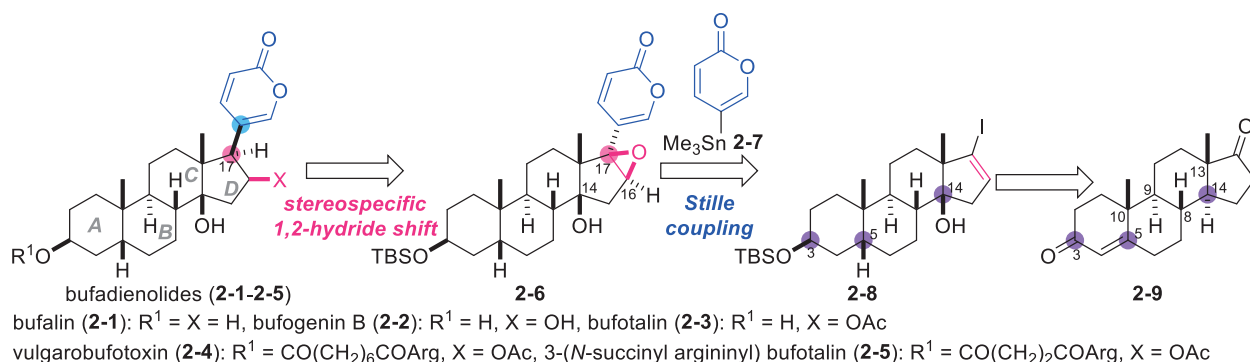
## 2. 生物活性天然物の全合成研究

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かつ短工程合成法の開発である。本年は、顕著ながん細胞成長阻害活性を有する5つのブファジエノリドの全合成を達成した。以下にその詳細を示す。

### 2-1. ブファジエノリド類の全合成

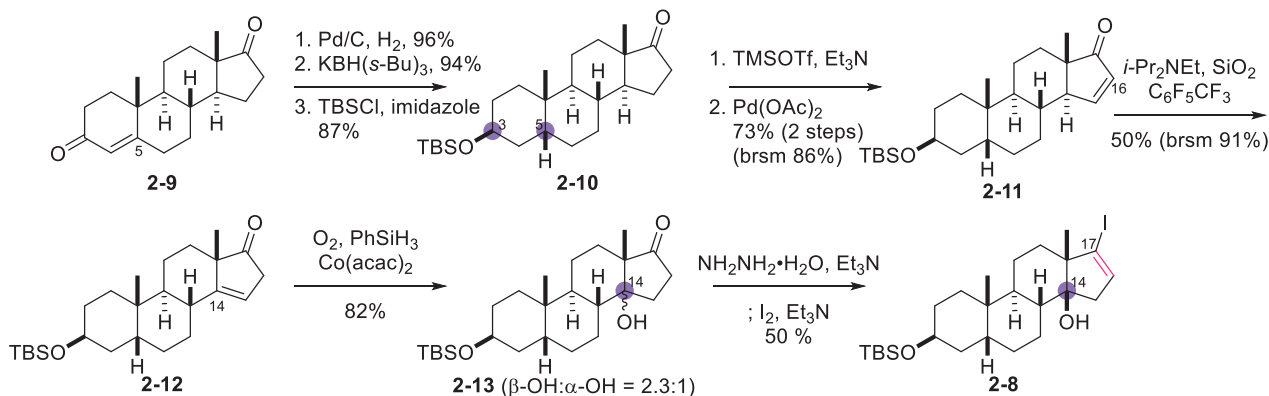
ブファジエノリド類は、AB シス CD シス縮環したステロイド骨格の C17 位に  $\beta$  配向の 2-ピロンを有する天然物群であり、がん細胞に対して強力な成長阻害活性を示す。従来の合成では、反応性の高い 2-ピロンの導入に多段階の変換が必要であり、2-ピロンをカップリング反応で直接導入した例はない。2-ピロンの構築には強酸中の加熱など過酷な反応条件が用いられているため、脱水反応の競合を避けるべく、C14 位ヒドロキシ基は 2-ピロン構築後に導入する必要がある、高酸化度類縁体の合成は実現困難であった。そこで、温和な反応条件下での立体選択的な C17 位 2-ピロンの導入と、反応性の高い 2-ピロンを損なわない変換を経るブファジエノリド類の全合成研究を行った。その結果、ブファリン(**2-1**)、ブフォゲニン B (**2-2**)、ブフォタリン(**2-3**)、バルガロブフォトキシシン(**2-4**) および 3-(*N*-スクシニルアルギニニル)ブフォタリン(**2-5**)の全合成を達成した。以下に詳細を示す。

逆合成解析を Scheme 2-1 に示す。ブファジエノリド **2-1-2-5** は、C16 位に酸素官能基を有する共通の中間体から合成することとした。C17 位の立体化学は、エポキシド **2-6** の立体特異的な 1,2-ヒドリド移動で導入する。2-ピロンは、スズ **2-7** との Stille カップリングで導入することとし、**2-6** をビニルヨージド **2-8** へと逆合成した。**2-8** が有する 7 つの立体化学は、その 4 つをすでに有する市販化合物 **2-9** から構築する。



Scheme 2-1. Synthetic plan for bufadienolides **2-1-2-5**.

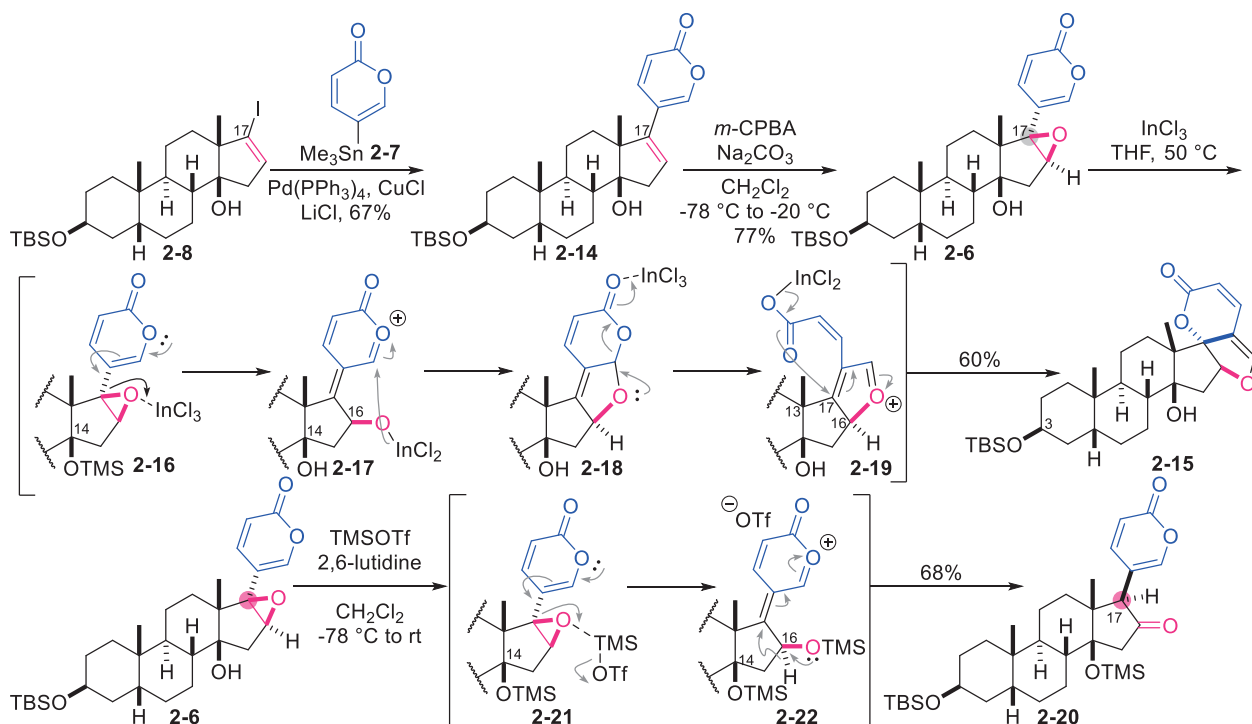
まず、ジケトン **2-9** からビニルヨージド **2-8** を 8 工程で合成した(Scheme 2-2)。 **2-9** から文献既知の方法で C3,5 位の立体化学を導入し、ケトン **2-10** とした。続いて伊藤・三枝酸化によりエノン **2-11** を合成し、生じたオレフィンを異性化することで **2-12** へ変換した。 **2-12** に対する向山水和反応でヒドロキシ基を位置・立体選択的に C14 位へ導入しアルコール **2-13** を得た後、ビニルヨージド化で **2-8** を合成した。



**Scheme 2-2.** Synthesis of vinyl iodide **2-8**.

続いて、**2-8**とスズ**2-7**との Stille カップリング反応で2-ピロンを連結し、**2-14**とした (Scheme 2-3)。**2-14**に対して *m*-CPBA を作用させた。その結果、2-ピロンを損なうことなく化学・立体選択的にエポキシ化が進行し、**2-6**が得られた。**2-6**へ Lewis 酸として InCl<sub>3</sub>を作用させると、6 環性化合物 **2-15**が得られた。本変換の反応機構を以下のように推定した。まず InCl<sub>3</sub>で活性化されたエポキシドの開環反応により、中間体 **2-16**を経て **2-17**を与える。続いて、生じたオキソカルベニウムイオンに対するインジウムアルコキシドの求核攻撃が進行し、アセタール **2-18**となる。InCl<sub>3</sub>が再び Lewis 酸として作用しラクトンのカルボニル酸素を活性化することで、開環反応とともにカルボキシラート **2-19**が生じる。最後に、カルボキシラートが C13 位メチル基の反対側から 5/5 シス縮環構造を形成するように C17 位へ求核攻撃し、立体選択的に **2-15**を与えたと考察した。Lewis 酸を検討した結果、**2-6**に対し TMSOTf を作用させた際、C17 位に所望の立体化学を有するケトン **2-20**が得られた。本反応では、**2-6**の C14 位ヒドロキシ基のシリルエーテル化と続くエポキシドの開環反応によって、**2-21**を経て **2-22**が生じる。中間体 **2-22**の C16 位ヒドロキシ基が、嵩高く電子供与性の TMS 基で一時的に保護されたために 2-ピロンへの環化が抑制され、1,2-ヒドリド移動が進行し所望の **2-20**を与えたと解釈できる。

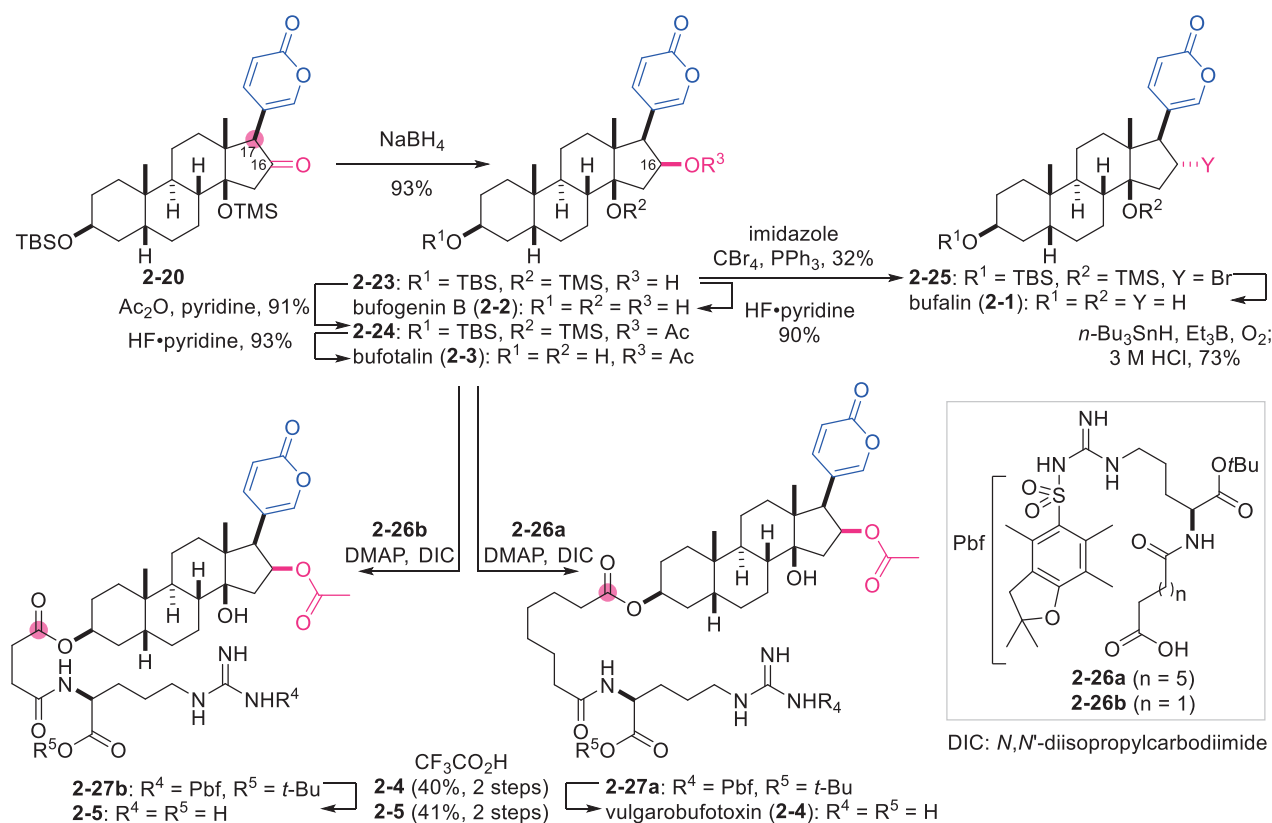




**Scheme 2-3.** Construction of desired stereochemistry at C17 position.

C16 位ケトンの還元と官能基化を経て、5つのブファジェノリドの全合成を達成した(Scheme 2-4)。2-20 のカルボニル基を立体選択的に還元し、アルコール 2-23 を得た。続いて 2-23 のシリル基を除去することで、ブフォゲニン B (2-2) を合成した。また、2-23 のヒドロキシ基をアセチル化した後にシリル基を除去し、ブフォタリン(2-3)へと導いた。一方、2-23 を Appel 反応に付すことで、ブロミド 2-25 を得た。続いて、酸素雰囲気下、Et<sub>3</sub>B と *n*-Bu<sub>3</sub>SnH を作用させブロミドを還元した。最後に、酸性条件下でシリル基を除去し、ブファリン(2-1)の合成を達成した。さらに、DIC を用いて 2-3 とカルボン酸 2-26a および 2-26b をそれぞれ連結し、得られたアシル化体 2-27a および 2-27b を酸性条件にて脱保護することで、バルガロブフォトキシシン(2-4)および 3-(*N*-スクシニルアルギニニル)ブフォタリン(2-5)をそれぞれ合成した。

さらに、合成した 2-1-2-5 および C17 二重結合を有する副生物のヒト乳がん細胞株 MCF-7 に対する増殖抑制活性を sulforhodamine B (SRB) アッセイにより評価した。その結果、ブファリン(2-1)が最も強い細胞増殖抑制活性を示した。各化合物の MCF-7 に対する増殖抑制活性を比較した結果、C16 位疎水性官能基、C3 位のヒドロキシ基および C17 位の β 配向の 2-ピロンの存在が強力な活性に重要であることが分かった。



Scheme 2-4. Total synthesis of five bufadienolides 2-1–2-5.

温和な反応条件下、立体選択的な 2-ピロン導入を実現し、5 つのブファジェノリドの全合成を 13–16 工程で達成した。従来法では達成困難であった、C14 位ヒドロキシ基および 2-ピロンを損なわない直接的な合成経路を、本合成によって実現した。今回確立した 2-ピロンの立体選択的な構築法は、高酸化度ブファジェノリド類の合成への応用が期待できる。

### 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。応用に向けて、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はそのための有効な手段の 1 つである。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、抗がん活性ペプチド系複雑天然物ヤクアミド B (3-1)ならびにイオンチャネル形成天然物グラミシジン A (3-2)を構造基盤とした研究を展開した。以下に詳細を述べる。

#### 3-1. ヤクアミド B および幾何異性体の固相全合成と機能解析

ヤクアミド B (3-1、Figure 3-1)は、希少深海海綿 *Ceratopsion* sp.から単離されたペプチド系複雑天然物であり、4 つの  $\beta,\beta$ -ジアルキル  $\alpha,\beta$ -不飽和アミノ酸構造[デヒドロイソロイシン( $\Delta\text{Ile}$ )およびデヒドロバリン( $\Delta\text{Val}$ )]を含む多数の非タンパク質構成アミノ酸残基と特異な N 末端および C 末端構造 (N-terminal acyl group = NTA, C-terminal amine = CTA)を有する。当研究室におけるこれまでの機能研

究によって、**3-1** はミトコンドリアに存在する F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATP 合成酵素に結合することが明らかにされた。さらに、**3-1** は同酵素の ATP 合成を阻害し、逆反応である ATP 加水分解を亢進する作用を持つことも示された。どちらの作用も細胞内 ATP 濃度の低下に寄与するため、これが **3-1** の種々のヒトがん細胞株に対する顕著な増殖抑制活性の作用機構であることが想定されている。

**3-1** の特異な作用は新規抗がん薬シーズとして魅力的である一方、さらなる応用展開のためには、効率的な分子構築法の開発が求められていた。本研究は、迅速な類縁体合成に資する **3-1** の効率的な固相全合成法の確立を目的とした。

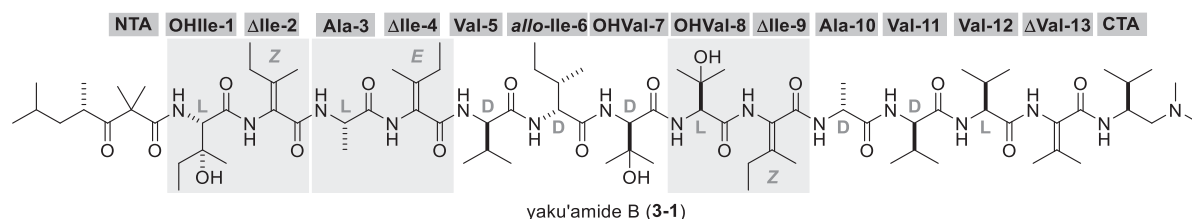
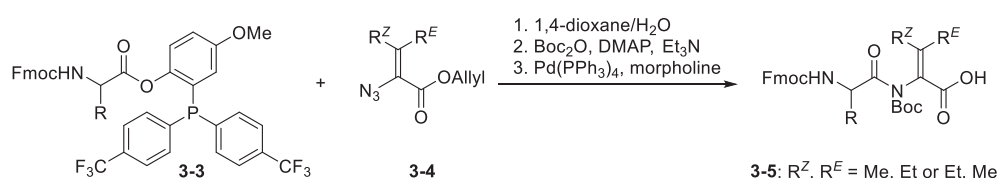


Figure 3-1. Structure of yaku'amide B (**3-1**).

汎用性の高い **3-1** の固相全合成法を確立するためには、Fmoc 法と容易に組み合わせることが可能な  $\Delta$ lle 部位の立体選択的構築法が必要であった。我々は、メトキシ基とトリフルオロメチル基を有するホスフィノフェノールエステル **3-3** とアルケニルアジド **3-4** を水含有溶媒中で混合する無痕跡型 Staudinger ライゲーションにより、第 2, 4, 6 残基の  $\Delta$ lle 部位を有する Fmoc 保護ジペプチドの *E/Z* 選択的な構築を実現した(Scheme 3-1)。これらのジペプチドユニットは、カップリング時の *E/Z* 異性化を抑制するためにエナミド部位を Boc 基で保護した **3-5** として固相合成に用いた。



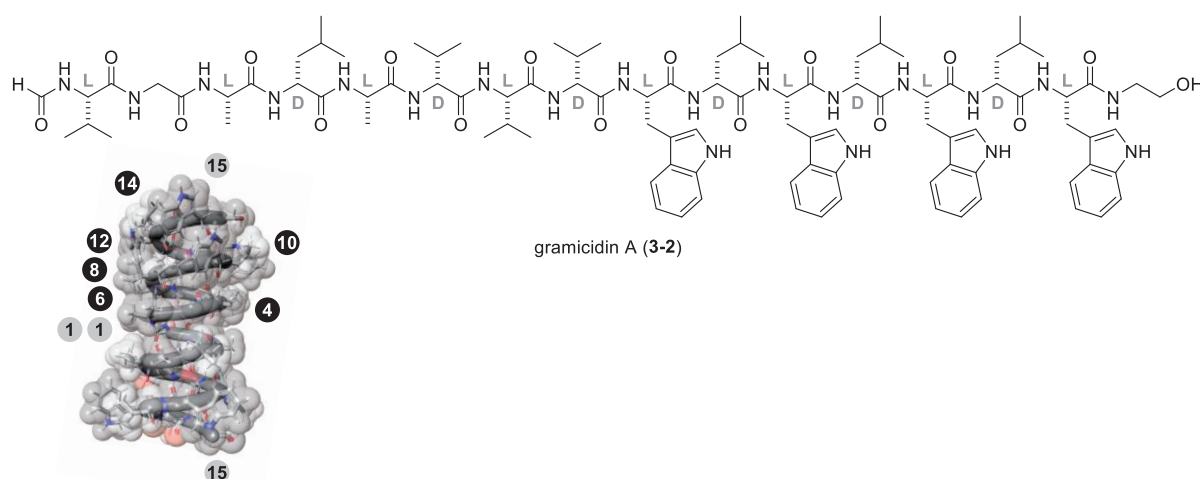
Scheme 3-1. Preparation of dipeptide units by the modified traceless Staudinger ligation.

固相担体には Wang-ChemMatrix 樹脂 **3-6** を採用した(Scheme 3-2)。 $\Delta$ Val 部位を有する固相担持ジペプチド **3-10** は、樹脂にアルケニルアジド **3-7** を担持した **3-8** とホスフィノフェノールエステル **3-9** を混合し、固相での無痕跡型 Staudinger ligation により構築した。N 末端の Fmoc 基の除去と N $\alpha$ -Fmoc アミノ酸の HATU, HOAt を用いた連結によりペプチド鎖を伸長し、ジペプチドユニット **3-5a**, **3-5b**, **3-5c** の PyBOP, HOAt を用いた縮合と、続く Boc 基の Eu(OTf)<sub>3</sub> を利用した選択的除去により  $\Delta$ lle 部位の固相導入を実現した。**3-18** の N 末端に NTA ユニット **3-19** を COMU を用いて導入し、全体構造 **3-20** を構築した後、AlMe<sub>3</sub> とアミン **3-21** から調製したアルミニウムアミドを用いることで、エステル-アミド交換による CTA ユニットの導入と樹脂からの切り出しを実現し、24 工程、総収率 9.1% で **3-1** の固相全合成を達成した。



計することは決して容易ではなく、わずかな構造改変によって著しく生物活性が低下したり、消失したりする例は枚挙にいとまがない。意図に反した生物活性の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可能性を拡大するためには、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、これまでに one-bead-one-compound (OBOC) アプローチを利用した天然物類縁体群の一挙創出と評価により、優れた機能を示す天然物類縁体創出に取り組んできた。本研究では、イオンチャンネル形成ペプチド系天然物であるグラミシジン A (**3-2**, Figure 3-2) を基盤構造として採用した。**3-2** は 15 残基からなるペプチド系天然物であり、D,L-アミノ酸が交互に配列する特異な構造を有する。**3-2** は細胞膜内で  $\beta^6_3$ -ヘリックスと呼ばれる 1 ピッチ 6.3 残基のらせん構造 2 量体を形成し、1 価カチオン ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{H}^+$ ) が透過するイオンチャンネルとなる。**3-2** はこのイオンチャンネル形成能に起因して、抗菌活性、哺乳細胞毒性、溶血活性といった多様な生物活性を示す。本研究では、OBOC アプローチによる構造多様化を利用して **3-2** と脂質膜構成分子との相互作用を変調し、**3-2** の強力な抗菌活性を保持しながら、望ましくない哺乳細胞毒性と溶血活性を制御することを目的とした。



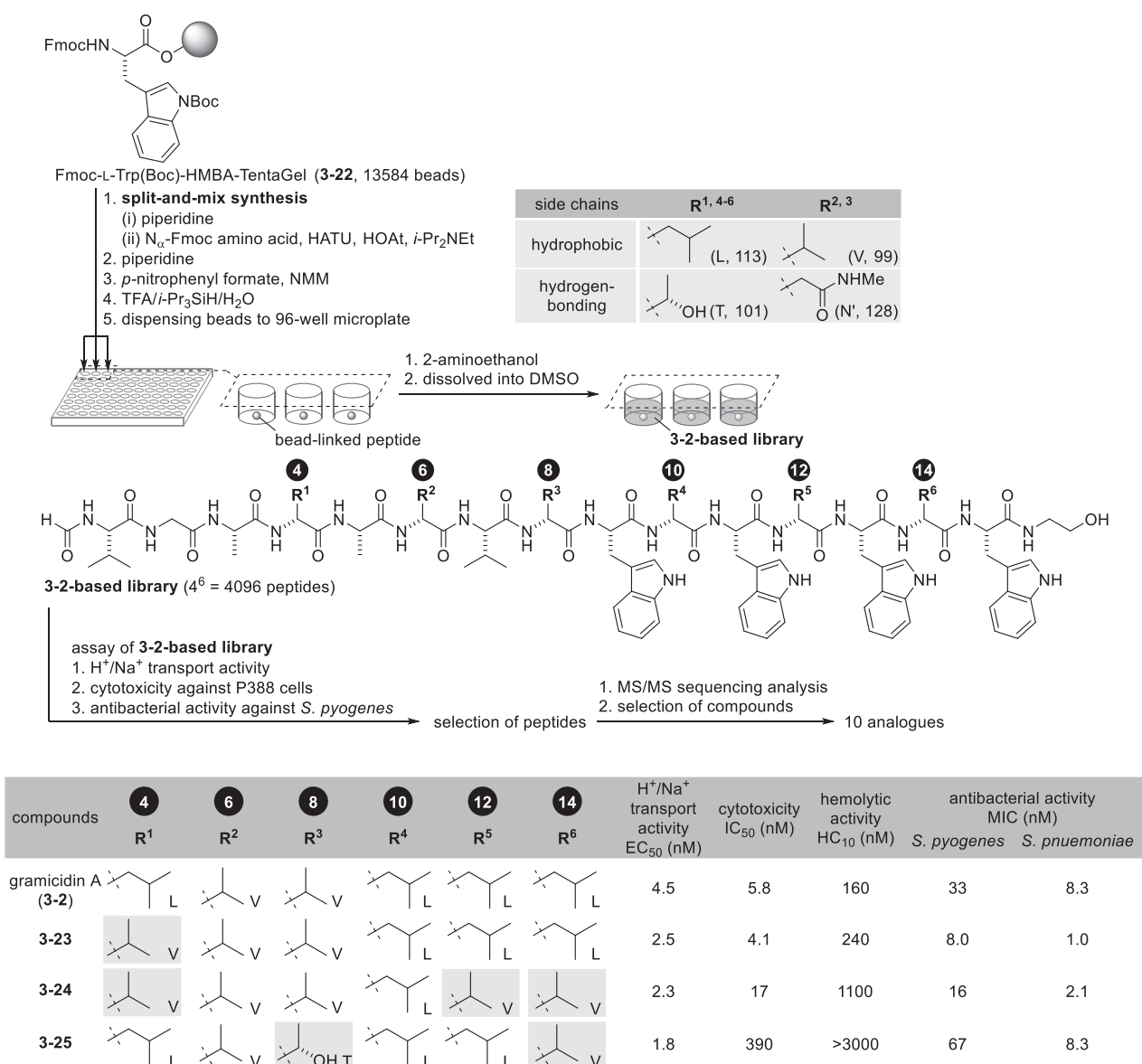
**Figure 3-2.** Structure of gramicidin A (**3-2**). Three-dimensional structure of **3-2** (PDB ID: 1MAG) is also displayed.

**3-2** の類縁体ライブラリーの構築は、酸性条件下で安定な HMBA リンカーを結合した TentaGel ビーズ(**3-22**, 13584 個)上で実施した(Scheme 3-3)。Fmoc 法を基盤とした split-and-mix 合成により、第 4、6、8、10、12 および 14 残基として疎水性のロイシン(L)およびバリン(V)、水素結合性のスレオニン(T)および N-メチルアスパラギン(N')をランダムに導入し、類縁体のペプチド鎖を構築した。N 末端へのホルミル基導入と続く側鎖の脱保護を行った後、それぞれのビーズをマイクロプレートに分配し、エステル-アミド交換で 2-アミノエタノール部位を C 末端へ導入すると同時にビーズから遊離させ、4096 種類からなる **3-2** の類縁体ライブラリーを構築した。これらのイオンチャンネル活性、P388 細胞に対する毒性、*Streptococcus pyogenes* (A 群溶血性レンサ球菌) に対する抗菌活性評価とタンデム質量分析による構造決定を実施した。その後、構造特性に基づいて 10 種類の類縁体を選出した。

これらの類縁体に関する詳細な機能評価により、特に重要な特性を示す新規類縁体 **3-23**, **3-24**,



**3-25** を初めて見出した。第4残基V置換体である **3-23** は、イオンチャネル活性(50%効果濃度: EC<sub>50</sub>)、哺乳細胞毒性(P388 に対する 50%阻害濃度: IC<sub>50</sub>)、溶血活性(10%溶血濃度: HC<sub>10</sub>)、抗菌活性(最小発育阻止濃度: MIC)の全てが天然物である **3-2** を上回っており、特に *S. pyogenes* および *Streptococcus pneumoniae*(肺炎レンサ球菌)に対してそれぞれ **3-2** の4倍、8倍の抗菌活性を示した。第4, 12, 14 残基V置換体である **3-24** は、*S. pyogenes* および *S. pneumoniae* に対して **3-2** よりも強力な抗菌活性を示すにも関わらず、哺乳細胞毒性は3分の1に、溶血活性は7分の1にそれぞれ低下していた。さらに、第8残基T、第14残基V置換体である **3-25** においては、*S. pneumoniae* に対する強力な抗菌活性(MIC 8.3 nM)を保持したまま、哺乳細胞毒性(IC<sub>50</sub> 390 nM)と溶血活性(HC<sub>10</sub> >3000 nM)が大幅に低減されることが明らかになった。



**Scheme 3-3.** Construction and evaluation of a **3-2**-based analogue library. Structures and activities of analogues **3-23**, **3-24**, and **3-25** are also displayed.

以上より、OBOC アプローチにより、天然物の大規模な構造機能相関を短期間で明らかにし、優れた活性特性を有する化合物を効果的に選出できることを実証した。大規模な構造多様化と機能評価に基づく本戦略は、ペプチド系天然物の分子機能を基盤に当該分子群の応用可能性を拡大する方法論として、さらなる展開が期待される。

## 学 術 論 文

- 1) S. Shimizu, K. Hagiwara, H. Itoh, M. Inoue, “Unified Total Synthesis of Five Bufadienolides,” *Org. Lett.* **2020**, *22*, 8652–8657.
- 2) M. Nagatomo, K. Zhang, H. Fujino, M. Inoue, “Et<sub>3</sub>B/Et<sub>2</sub>AlCl/O<sub>2</sub>-Mediated Radical Coupling Reaction between  $\alpha$ -Alkoxyacyl Tellurides and 2-Hydroxybenzaldehyde Derivatives,” *Chem. Asian J.* **2020**, *15*, 3820–3824.
- 3) Y. Iwahashi, Y. Toyama, S. Imai, H. Itoh, M. Osawa, M. Inoue, I. Shimada, “Conformational Equilibrium Shift Underlies Altered K<sup>+</sup> Channel Gating as Revealed by NMR,” *Nat. Commun.* **2020**, *11*, Article number: 5168.
- 4) Y. Takada, H. Itoh, A. Paudel, S. Panthee, H. Hamamoto, K. Sekimizu, M. Inoue, “Discovery of Gramicidin A Analogues with Altered Activities by Multidimensional Screening of a One-Bead-One-Compound Library,” *Nat. Commun.* **2020**, *11*, Article number: 4935.
- 5) T. Fukuda, M. Nagatomo, M. Inoue, “Total Synthesis of Diospyrodin and Its Three Diastereomers,” *Org. Lett.* **2020**, *22*, 6468–6472.
- 6) K. Minagawa, D. Kamakura, K. Hagiwara, M. Inoue, “Construction of the ABCE-ring Structure of Talatisamine via Decarboxylative Radical Cyclization,” *Tetrahedron* **2020**, *76*, 131385.
- 7) H. Fujino, T. Fukuda, M. Nagatomo, M. Inoue, “Convergent Total Synthesis of Hikizimycin Enabled by Intermolecular Radical Addition to Aldehyde,” *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 13227–13234.
- 8) T. Teratani, Y. Mikami, N. Nakamoto, T. Suzuki, Y. Harada, K. Okabayashi, Y. Hagihara, N. Taniki, K. Kohno, S. Sibata, K. Miyamoto, H. Ishigame, P.-S. Chu, T. Sujino, W. Suda, M. Hattori, M. Matsui, T. Okada, H. Okano, M. Inoue, T. Yada, Y. Kitagawa, A. Yoshimura, M. Tanida, M. Tsuda, Y. Iwasaki, T. Kanai, “The Liver–Brain–Gut Neural Arc Maintains the Treg Cell Niche in the Gut,” *Nature* **2020**, *585*, 591–596.
- 9) H. Itoh, K. Miura, K. Kamiya, T. Yamashita, M. Inoue, “Solid-Phase Total Synthesis of Yaku’amide B Enabled by Traceless Staudinger Ligation,” *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, *59*, 4564–4571.
- 10) J. Mao, H. Itoh, K. Sakurai, M. Inoue, “Phospholipid-Dependent Functions of a Macrocyclic Analogue of the Ion-Channel-Forming Antibiotic Gramicidin A,” *Chem. Pharm. Bull.* **2020**, *68*, 173–178.
- 11) D. Kamakura, H. Todoroki, D. Urabe, K. Hagiwara, M. Inoue, “Total Synthesis of Talatisamine,” *Angew. Chem., Int. Ed.* **2020**, *59*, 479–486.

## 総 説・著 書

- 12) 井上将行, 徳本皓太郎, 加治拓哉, 伊藤寛晃, “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,” *MEDCHEM NEWS* **2020**, *30*, 84–88.

## 受 賞

- 1) 福田卓海(博士課程 2 年), “ヒキジマイシンの収束的全合成,” 第 18 回次世代を担う有機化学シンポジウム 優秀発表賞
- 2) 藤野遥, The Reaxys PhD Prize 2020 ファイナリスト
- 3) 鎌倉大貴(博士課程 3 年), “タラチサミンの全合成,” 第 61 回 天然有機化合物討論会 奨励賞

## 招 待 講 演

- 1) M. Inoue, “Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products,” 19th CSCB Annual Symposium, Dublin, Ireland, Online, December 11, 2020 (Plenary Lecture)
- 2) 井上将行, “ラジカル反応による複雑分子構築の単純化,” 名古屋大学生命農学研究科, 名古屋大学, 愛知県, 名古屋市, オンライン, 2020 年 11 月 25 日
- 3) 井上将行, “ラジカル反応による複雑分子構築の単純化,” 第 10 回ケムステ V シンポ「天然物フイロソフィ」, オンライン, 2020 年 10 月 29 日
- 4) 井上将行, “ライソシン E の構造に基づく新規人工抗菌ペプチド群の網羅的創出,” 第 93 回日本細菌学会総会, ウィンクあいち, 愛知県, 名古屋市, 2020 年 2 月 21 日
- 5) 井上将行, “薬を創る化学,” EMP プログラム, 東京大学, 東京, 2020 年 1 月 18 日