

## ◆ 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、橋頭位ラジカルを利用した反応や $\alpha$ -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。本年は、橋頭位ラジカルを用いたタンデムラジカル環化を利用した5環性リモノイド骨格構築法を開発した。以下にその詳細を示す。

### 1-1. 5環性リモノイド骨格構築法の開発

ステロイド様四環性骨格を有する化合物は、天然から多数単離されており、縮環様式や極性官能基の違いにより多様な生物活性を示す。トウセンダニン(**1-1**, Figure 1-1)や9 $\beta$ -アモオラストチン(**1-2**)に代表されるリモノイドは、リモノイド骨格が酸化的に修飾・開裂した、多様な構造を有する天然物群である。**1-1**, **1-2**はともにトランスAB環、CD環と6環性ラクトール環を持ち、C4, 8, 10, 13位に第四級炭素を有する。**1-1**, **1-2**はC9位立体化学とC12位の官能基が異なる。

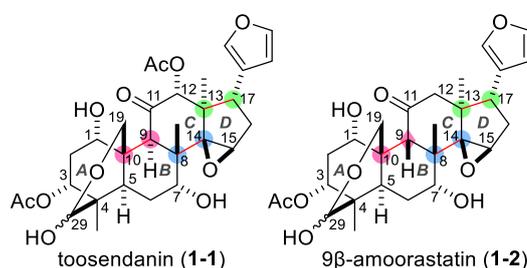
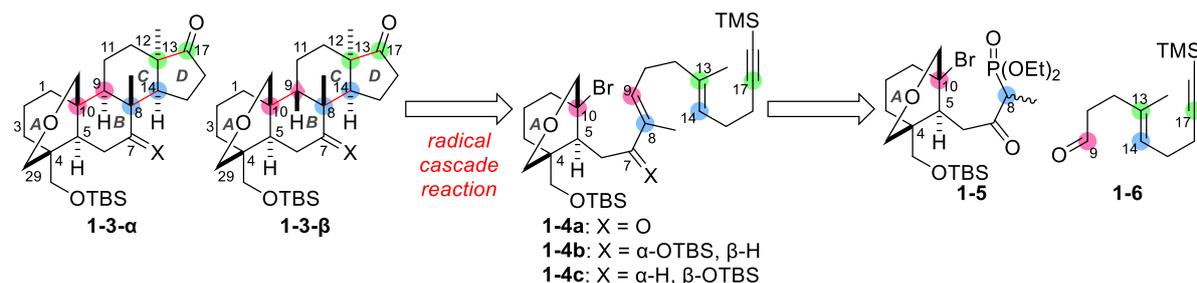


Figure 1-1. Structures of **1-1** and **1-2**

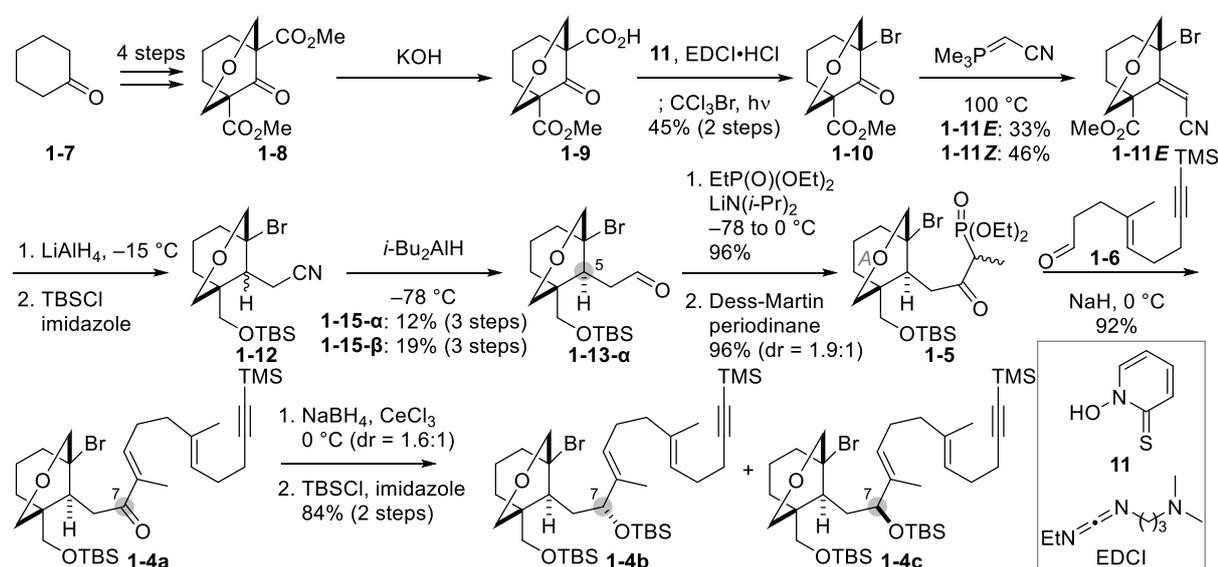
現在までに数百種のリモノイドが単離されており、殺虫活性や抗菌活性などの多様な生物活性が報告されている。例えば、**1-1**は、抗ボツリヌス毒素活性、多様ながん細胞に対するアポトーシス誘導活性、昆虫に対する摂食・成長阻害活性が知られている。**1-1**, **1-2**の骨格を有するリモノイドの合成は、その複雑な構造ゆえ有機合成化学的に極めて困難である。我々は、橋頭位ラジカルを用いたタンデムラジカル環化を利用した5環性リモノイド骨格構築法を確立した。

**1-1**, **1-2**と同じ縮環形式を持つ**1-3- $\alpha$** 、**1-3- $\beta$** を標的化合物に設定し、分子内連続ラジカル環化を用いて、リモノイド骨格の3個の第四級炭素を含むBCD環を1段階で構築する計画を立てた(Scheme 1-1)。すなわち、2環性化合物であるブロミド**1-4**からC-Br結合の均等開裂により橋頭位ラジカルを発生させれば、近傍のオレフィンへのラジカル環化が連続して立体選択的に進行し、リモノイド骨格**1-3**を構築できると予想した。ラジカル環化基質**1-4**はA環フラグメント**1-5**とアルデヒド**1-6**の縮合により合成することとした。本合成法を基盤として、**1-5**および**1-6**の代わりに多様な構造のA環フラグメントおよびアルデヒドを用いれば、様々なリモノイドの合成を展開できると考えた。



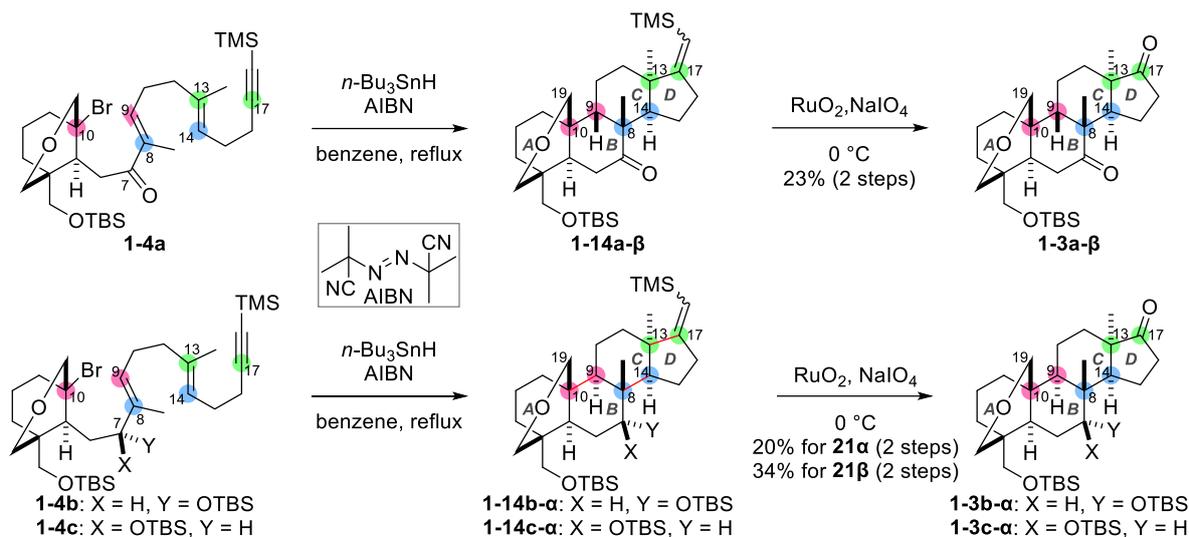
Scheme 1-1. Synthetic plan of limonoid skeleton **1-3**.

C7位の官能基が異なる3種類のラジカル環化基質**1-4**を合成した(Scheme 1-2)。まず、ケトン**1-7**から4工程で合成したジエステル**1-8**の、一方のエステルのみを加水分解した。得られたカルボン酸**1-9**をBartonエステルへ変換した後、 $\text{CCl}_3\text{Br}$ 存在下、光照射することでプロミド**1-10**に導いた。次に、リンイリドを用いた炭素鎖導入により、ニトリル**1-11E**および幾何異性体**1-11Z**を合成した。**1-11E**に対してエステルの還元と不飽和ニトリルの1,4-還元を同時に行い、生じたアルコールをTBS基で保護した。生成した**1-12**のニトリル基の還元により、アルデヒド**1-13- $\alpha$** およびC5位に関する立体異性体**1-13- $\beta$** を得た。さらに、**1-13- $\alpha$** へホスホン酸エステルを付加し、生じたアルコールを酸化することで、A環フラグメント**1-5**を合成した。塩基存在下、**1-5**と既知のアルデヒド**1-6**を縮合し、C7位がケトンである環化基質**1-4a**を得た。また、**1-4a**からケトンの還元と、生じたアルコールのTBS基での保護により、C7位にシリルエーテルを有する環化基質**1-4b**およびC7位に関する立体異性体**1-4c**を得た。



Scheme 1-2. Synthesis of radical precursors **1-4**.

次に、環化基質**1-4a**、**1-4b**および**1-4c**を用いて分子内連続ラジカル環化を検討した(Scheme 1-3)。C7位にケトンを持つ**1-4a**をラジカル環化条件に付したところ、分子内連続ラジカル環化反応が進行し、C9位に $\beta$ 配向の水素原子を有する5環性化合物**1-14a- $\beta$** が生じた。続いて**1-14a- $\beta$** のビニルシランを酸化的に切断して5環性ケトン**1-3a- $\beta$** を2工程収率23%で得た。以上により、**1-2**の炭素骨格を構築できた。一方、C7位にシリルエーテルを持つ**1-4b**および**1-4c**をラジカル反応に付したところ、5環性化合物**1-14b- $\alpha$** および**1-14c- $\alpha$** が得られた。ビニルシランの切断により、それぞれ2工程収率20%、34%で**1-3b- $\alpha$** および**1-3c- $\alpha$** が生じた。**1-3b- $\alpha$** および**1-3c- $\alpha$** は、3個の第四級炭素とC9位第三級炭素について**1-1**と同じ立体配置を有する。本反応では、5個の立体化学を制御しながら、3個の第四級炭素と3個の炭素-炭素結合を形成した。その結果、2環性化合物**1-4a**、**1-4b**および**1-4c**からリモノイド骨格を有する5環性化合物**1-14a- $\beta$** 、**1-14b- $\alpha$** および**1-14c- $\alpha$** を1段階で構築できた。



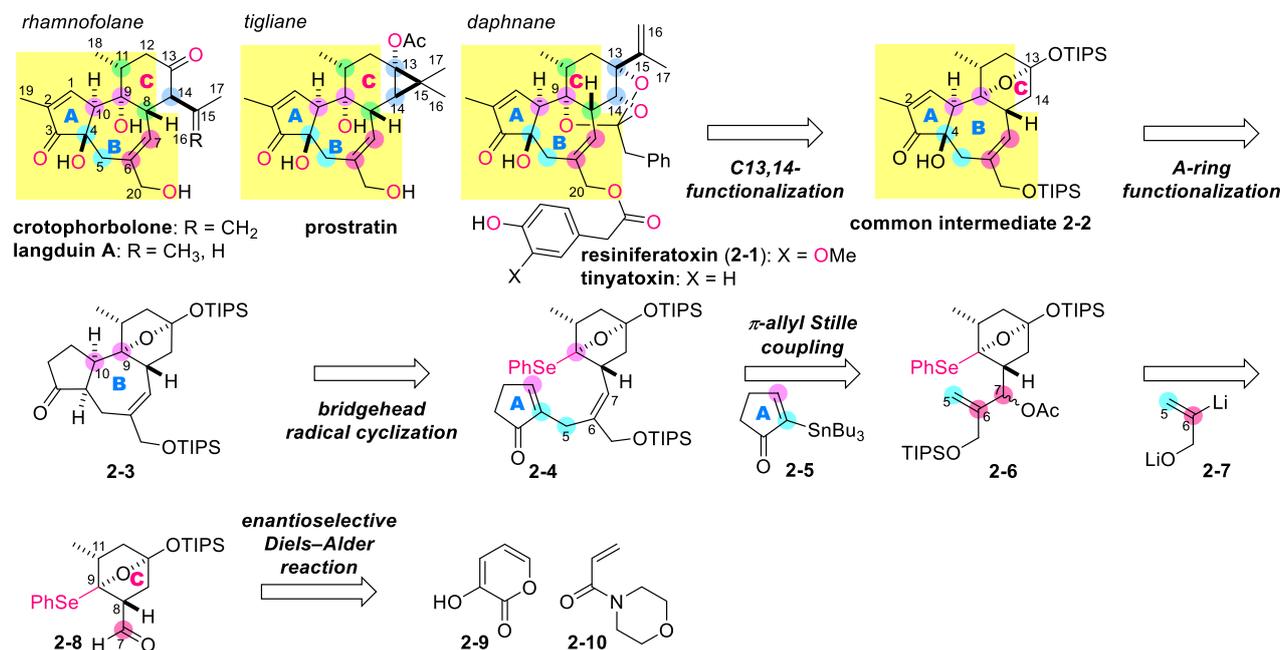
Scheme 1-3. Radical cascade reactions.

以上のとおり、**1-1** および **1-2** に対応する、2 種類の縮環様式を持つ五環性骨格 **1-3a-β** および **1-3b-α**, **1-3c-α** の効率的構築に成功した。C-Br 結合の均等開裂によって発生させた橋頭位ラジカルを利用した分子内連続ラジカル反応により、BCD 環の構築と 2 つの第三級炭素と 3 つの第四級炭素の構築を同時に行い、2 環性化合物 **1-4** から 1 段階でリモノイド骨格を立体選択的に構築した。また、基質の C7 位の官能基の調整により、C9 位立体化学を制御することができた。本連続ラジカル反応は、強力かつ効率的にステロイド様四環性骨格を実現できる手法であり、高酸化度リモノイドやステロイドの合成の鍵反応としての応用が期待できる。

## 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的な短工程合成法の開発である。本年は、抗 HIV 活性や鎮痛活性を有するダフナン・チグリアン・ラムノフォランジテルペン類の統一的な全合成を達成した。また、強力な抗 HIV 活性を有するオイオニンミン(**2-19**)と P 糖タンパク質阻害活性を有するオイオニンミノールオクタアセテート(**2-20**)の全合成を達成した。以下にその詳細を示す。

## 2-1. ダフナン・チグリアン・ラムノフォラン類の統一的全合成



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

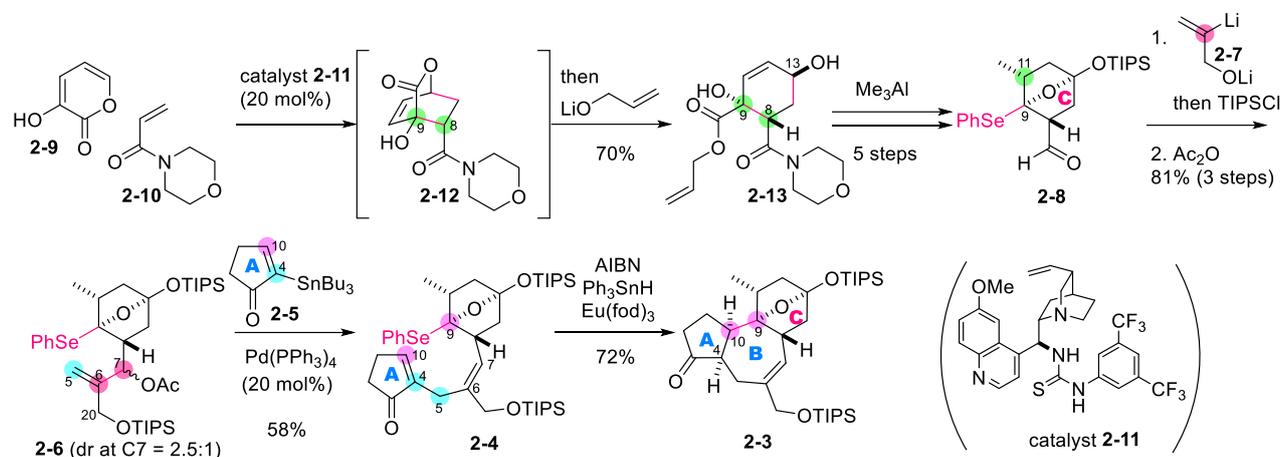
ダフナン・チグリアン・ラムノフォランジテルペン類は、トウダイグサ科とジンチョウゲ科の植物から単離された天然物群である。これらの化合物は、高度に酸素官能基化された 5/7/6 員環(ABC 環) がトランス縮環した共通 3 環性骨格を有する。一方で C 環上の C13, C14 に位置する 3 炭素ユニットおよび酸素官能基の置換様式の差異によって、これらの天然物は多様な生物活性を示す。

今年度我々は、レジニフェラトキシン(2-1)、チニヤトキシン、プロストラチン、クロトフォルボロン、ランドイン A という代表的な 5 種の天然物の全合成を、3 環性化合物 2-2 を共通中間体として、超効率的に実現する新しい統一戦略を開発した。ここではレジニフェラトキシン(2-1)を例に、その合成戦略を示す。

レジニフェラトキシン(2-1)は、*Euphorbia resinifera* から単離・構造決定されたダフナンジテルペンであり、痛覚に関する受容体 TRPV1 に作用して強力な鎮痛活性を示す。モルヒネなどの麻薬性鎮痛薬とは異なる作用機序が注目され、現在がん性疼痛の新規鎮痛薬として米国で第 II 相臨床試験が行われている。構造的には、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 つの連続不斉中心と特異なオルトエステル構造を持つ。これらの複雑な化学構造ゆえ、2-1 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。これまでに報告された全合成は、Wender らと我々による 2 例のみにとどまる。今回我々は、分子内ラジカル反応を鍵とした 2-1 のより短工程での全合成を達成した。

逆合成解析を Scheme 2-1 に示す。2-1 は 6 員環 C 環上の C13, C14 位の位置および化学選択的な官能基化により 3 環性共通中間体 2-2 から合成することとし、2-2 は 3 環性化合物 2-3 の 5 員環 A 環の化学選択的な官能基化を経て構築する。立体障害の高い C9-C10 位結合は、アルコキシセレニド 2-4 から発生させた橋頭位ラジカルのエノンへの分子内ラジカル付加反応により形成可能であると予想した。ラジカル前駆体 2-4 は、 $\pi$ アリル Stille カップリングを用いて、A 環フラグメント 2-5 をアリ

ルアセテート **2-6** に対して導入することで合成する。**2-6** は、C 環フラグメント **2-8** に対して 3 炭素ユニット **2-7** を付加させることで合成できる。**2-8** の高度に官能基化された 6 員環は、ジエン **2-9** およびジエノフィル **2-10** の不斉 Diels–Alder 反応により立体選択的に構築する。

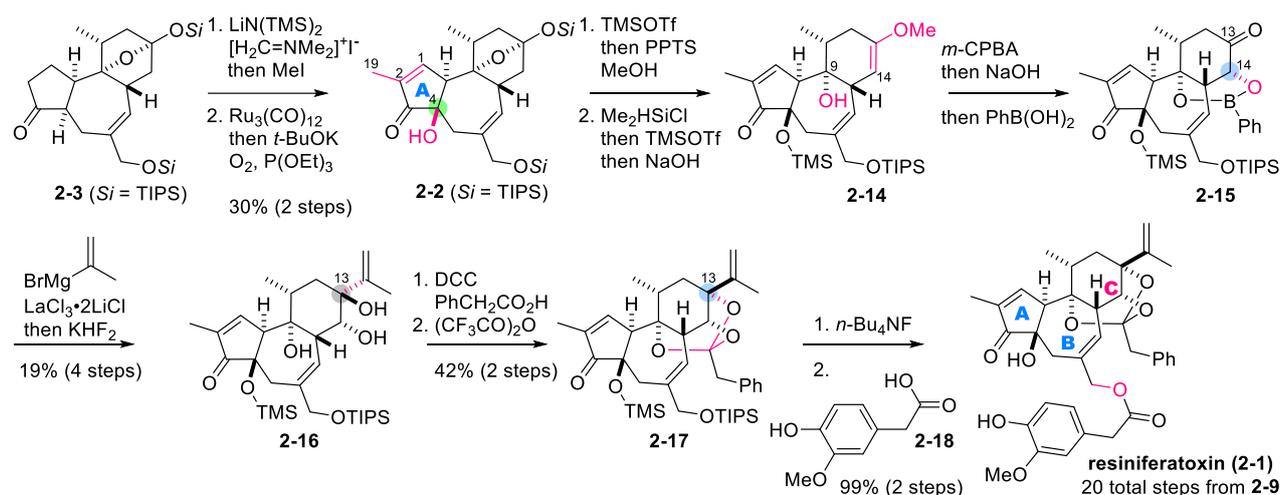


**Scheme 2-2.** Synthesis of tricyclic compound **2-3**.

はじめに、5/7/6 員環を有する 3 環性化合物 **2-3** を合成した(Scheme 2-2)。ピロン **2-9** およびアクリロイルモルホリン **2-10** に対して、キニン誘導体 **2-11** を触媒とした不斉 Diels–Alder 反応を行った。その結果、絶対立体および位置選択的に反応は進行し、ラクトン **2-12** を得た。さらに、アリルアルコールによるラクトンの開環をワンポットで行い、アリルエステル **2-13** とした。化合物 **2-13** は C8, C9 位に **2-1** と同様の不斉中心および官能基導入の足掛かりとなる C13 位ヒドロキシ基を有する。**2-13** から C11 位への立体選択的なメチル基導入を含む 5 工程の変換を経て C9 位にアルコキシセレニドを有する C 環フラグメント **2-8** を合成した。アルデヒド **2-8** に対して 3 炭素ユニットであるビニルリチウム **2-7** を付加したのち、生じた 2 つのヒドロキシ基を TIPS 基およびアセチル基で順次保護し、アリルアセテート **2-6** を合成した(dr at C7 = 2.5:1)。次いで C7 位立体異性体混合物 **2-6** に対して  $\pi$  アリル Stille カップリングを用いて A 環フラグメント **2-5** の導入を行い、ラジカル前駆体 **2-4** を立体および位置選択的に合成した。続いて、ラジカル開始剤として AIBN、還元剤として  $\text{Ph}_3\text{SnH}$ 、Lewis 酸として  $\text{Eu}(\text{fod})_3$  存在下、**2-4** のアルコキシセレニドからラジカルを発生させた。その結果、生じた橋頭位ラジカルが立体選択的にエノン C10 位へ付加することで所望の付加成績体である **2-3** が得られた。これにより、市販化合物 **2-9** から 10 工程で ABC 環および **2-1** が有する 4 つの連続不斉中心を持つ **2-3** の合成を完了した。

中間体 **2-3** の A 環および C 環に対して官能基を導入することで **2-1** の全合成を達成した(Scheme 2-3)。**2-3** から 2 工程の変換により C19 位メチル基、C1 位二重結合および C4 位ヒドロキシ基の導入を行うことで共通中間体ケトン **2-2** を得た。この際、C4 位ヒドロキシ基を  $\beta$  面から立体選択的に導入することで天然物が有する A 環の構築を達成した。次に C 環への官能基の導入を行った。**2-2** から 2 工程の変換を経て、メチルビニルエーテル **2-14** とした。**2-14** に対して、*m*-CPBA によるビニルエーテルの化学選択的酸化と続く加水分解およびボロン酸エステル形成によりケトン **2-15** を合成した。この際、C9 位ヒドロキシ基を配向基とし、C14 位ヒドロキシ基を  $\alpha$  面より立体選択的に導入した。**2-15** に対して、 $\text{LaCl}_3 \cdot 2\text{LiCl}$  存在下 Grignard 試薬を作用させることで化学選択的にイソプ

ロペニル基を導入した。さらに、 $\text{KHF}_2$ によるボロン酸エステル脱保護をワンポットで行い、トリオール **2-16** とした。しかし、**2-16** の C13 位立体化学は所望とは逆であったため、C13 位立体化学の反転が必要であった。種々検討の結果、トリオール **2-16** の 2 級 C14-OH を、フェニル酢酸と縮合させ、得たジオールの 3 級 C13-OH をトリフルオロアセチル化した。これを  $100^\circ\text{C}$  に加熱すると、C13 位立体化学の反転を伴ってオルトエステル形成が進行し **2-17** が得られた。 $n\text{-Bu}_4\text{NF}$  を用いて、**2-17** の TMS 基および TIPS 基を除去したのち、1 級アリールアルコールに対してホモバニリン酸 **2-18** を光延条件下導入することで、**2-1** の全合成を総 20 工程で達成した。



Scheme 2-3. Total synthesis of resiniferatoxin (**2-1**).

橋頭位ラジカルを用いた効率的な 3 環性骨格の構築および洗練された A,C 環への官能基導入により合成総工程数を従来の半分以上に削減し(41 工程 $\rightarrow$ 20 工程)、圧倒的に効率化した。本効率的合成戦略は、がん性疼痛の新規治療薬として期待される **2-1** の量的供給に貢献するだけでなく、創薬リードとなる類縁体の創出およびより高酸化度の天然物の合成を実現可能にする。

## 2-2. オイオニンおよびオイオミノールオクタアセテートの全合成

ジヒドロ- $\beta$ -アガロフラン類は、主にニシキギ科の植物から単離される天然物群である(Figure 2-1)。ジヒドロ- $\beta$ -アガロフランの三環性骨格上の酸化度や酸素官能基のアシル化様式の違いにより、これらの天然物は多種多様な生物活性を示す。例えば、オイオニン(**2-19**)とオイオミノールオクタアセテート(**2-20**)は、アガロフラン骨格上に最も多くの酸素官能基を有するオイオミノール(**2-21**)を共通構造とする。**2-19** と **2-20** は C3 位および C13 位のアシル化様式のみが異なるが、**2-19** は抗 HIV 活性を、**2-20** は P 糖タンパク質阻害活性を示す。**2-20** は、アガロフラン骨格上に 4 つの四置換炭素を含む 11 連続不斉中心と 9 つの酸素官能基が密

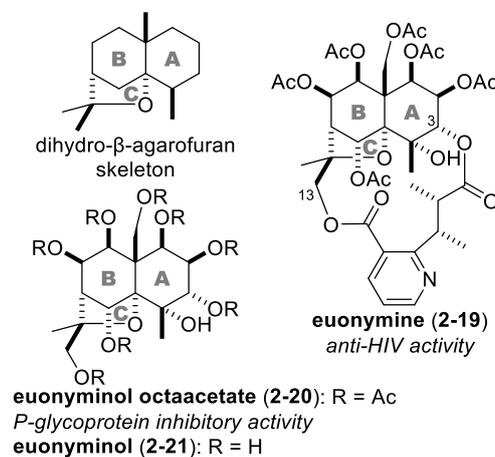
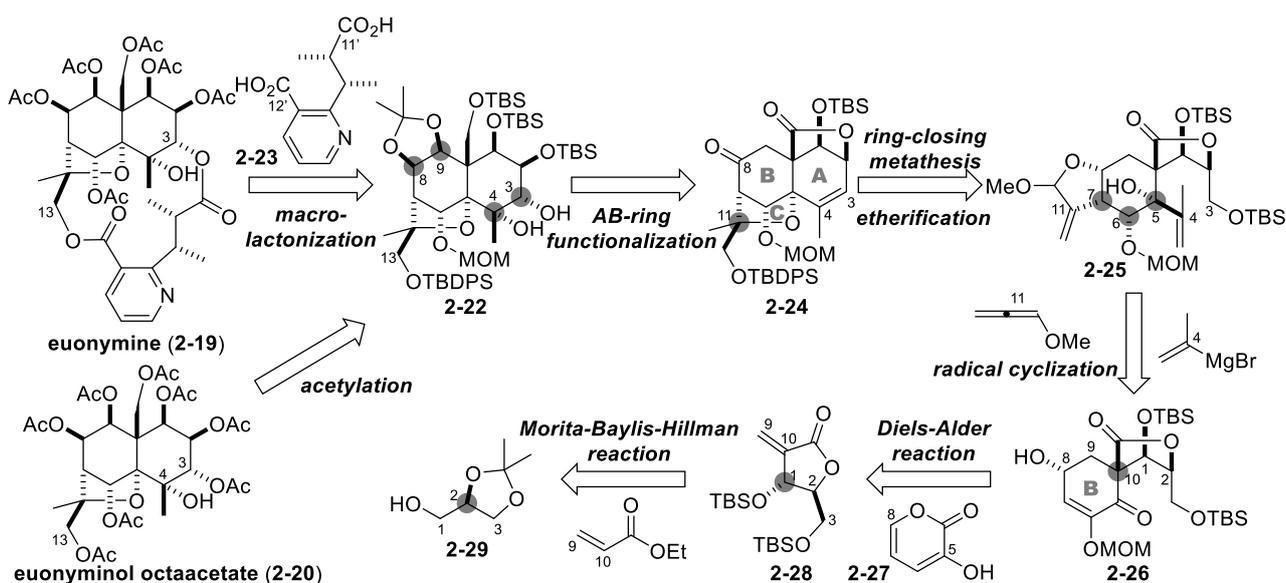


Figure 2-1. Dihydro- $\beta$ -agarofurans

集する構造を持つ。さらに、**2-19** はビシナルジメチル基とピリジンを含む特異な 14 員環ビスラクトンを有している。そのため、これらは合成による構築が極めて挑戦的な化合物であり、**2-20** の全合成は White らと Herzon らによる 2 例のみで、**2-19** の全合成は報告されていなかった。今年我々は、高酸化度アガロフラン類の統一的合成を視野に入れ、**2-20** および **2-19** の全合成を達成した。

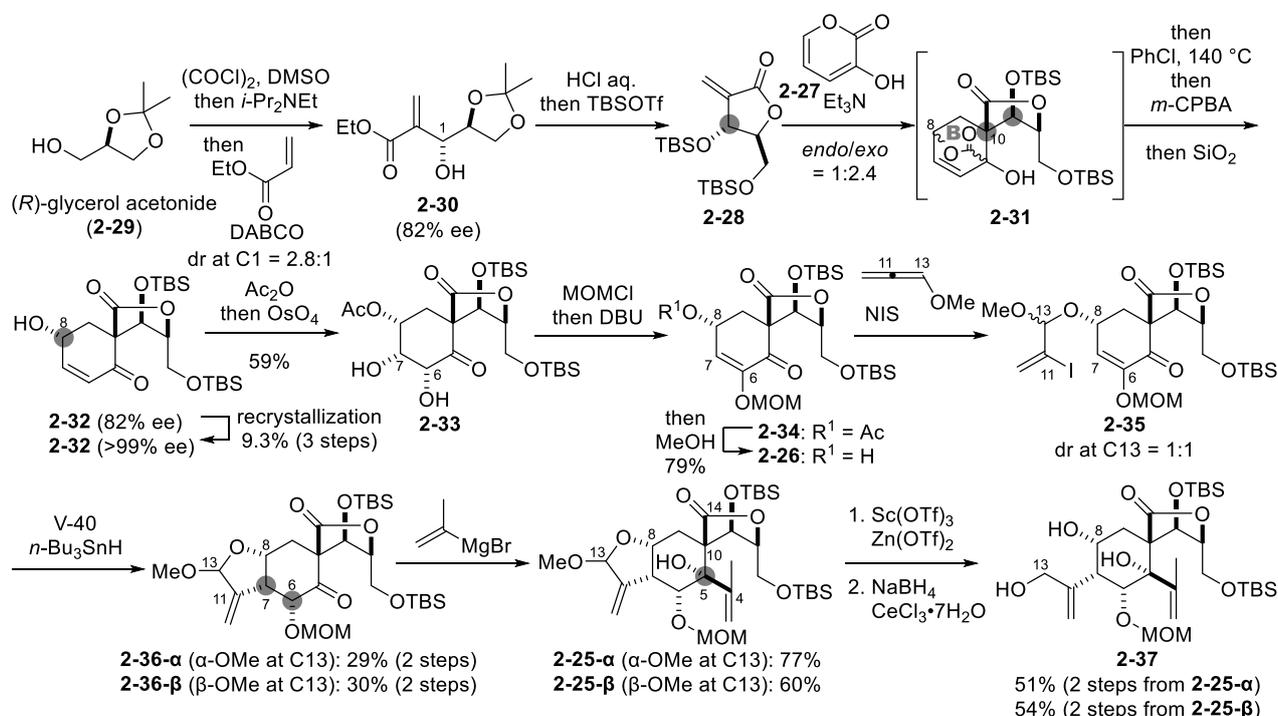
**2-19** および **2-20** の合成計画を Scheme 2-4 に示す。C3 位と C13 位のアシル化様式が異なる **2-19** および **2-20** を合成するため、共通中間体としてオイオニミノール保護体 **2-22** を設定した。**2-22** から、C3 位および C13 位ヒドロキシ基に対して、エボニン酸(**2-23**)の C11'位と C12'位のカルボン酸を逐次的に縮合し、**2-19** を合成する計画を立てた。**2-20** は、**2-22** の全保護基の除去と、C4 位 3 級ヒドロキシ基以外のすべてのヒドロキシ基のアセチル化により合成する。**2-22** はアガロフラン骨格を有する **2-24** から、AB 環官能基化を経て得ることとした。**2-24** のアガロフラン骨格は、**2-25** から C 環の立体選択的なエーテル環化、A 環の閉環メタセシス(RCM)による構築によって導く。**2-25** は、B 環を有する **2-26** から、分子内ラジカル環化により構築できると予想した。**2-26** の B 環は、**2-27** と **2-28** の塩基加速型 Diels–Alder 反応により構築し、**2-28** は市販の **2-29** から誘導する。



**Scheme 2-4.** Retrosynthetic analysis of euonymine (**2-19**) and euonyminol octaacetate (**2-20**).

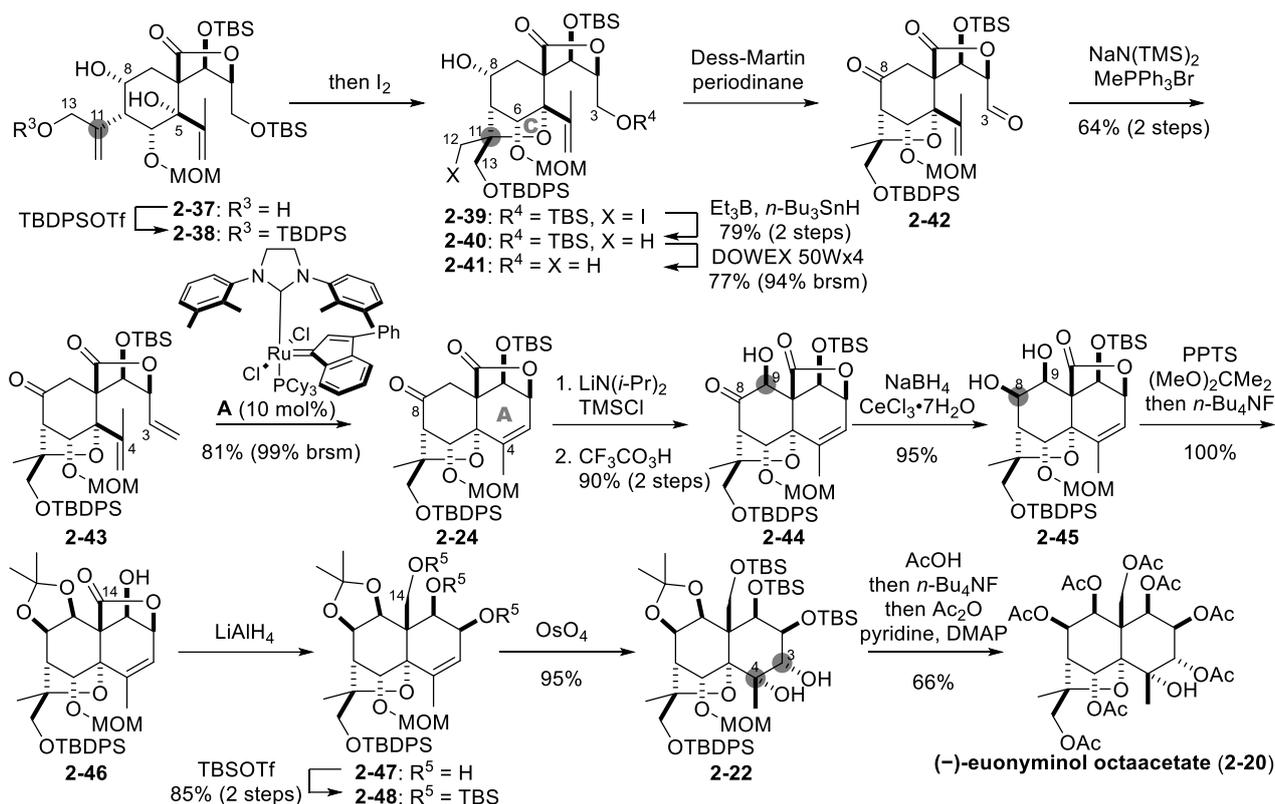
はじめに、市販の(*R*)-グリセロールアセトニド(**2-29**)から、B 環を有する中間体 **2-37** を合成した (Scheme 2-5)。まず、**2-29** を Swern 酸化し、得られたアルデヒドに対する Morita–Baylis–Hillman 反応により、**2-30** を 82% ee で得た。酸性条件で **2-30** からラク톤を構築した後、ジオールを TBS 基で保護して **2-28** に導いた。**2-28** と **2-27** の塩基加速型 Diels–Alder 反応により、C10 位 4 級炭素を構築し、B 環を形成して **2-31** とした後、ワンポットで脱炭酸、エポキシ化およびエポキシドの開環を行い、エノン **2-32** とした。得られた **2-32** の再結晶により、鏡像異性体過剰率を 99% 以上に向上させた。**2-32** の C8 位ヒドロキシ基をアセチル保護し、OsO<sub>4</sub> を作用させジオール **2-33** に変換した。**2-33** のジオールを MOM 保護した後、DBU による E1cB 脱離、MeOH 添加による脱アセチル化をワンポットで行い、**2-26** を良好な収率で得た。続いて C7 位への、C13 位酸素官能基を有する炭素鎖導入のため、メトキシアレンおよび NIS を作用させ、ビニルヨード **2-35** を誘導した。**2-35** をラジカ

ル条件に付すことで、分子内ラジカル環化が進行し、C7位の立体選択的な炭素鎖導入とC6位の立体化学構築を同時に実現し、**2-36**を得た。**2-36**へのGrignard反応により、C5位四置換炭素を立体選択的に構築し、**2-25**とした。Lewis酸存在下、**2-25**のメチルアセタールを加水分解し、生じたラクトールを還元して**2-37**を合成した。



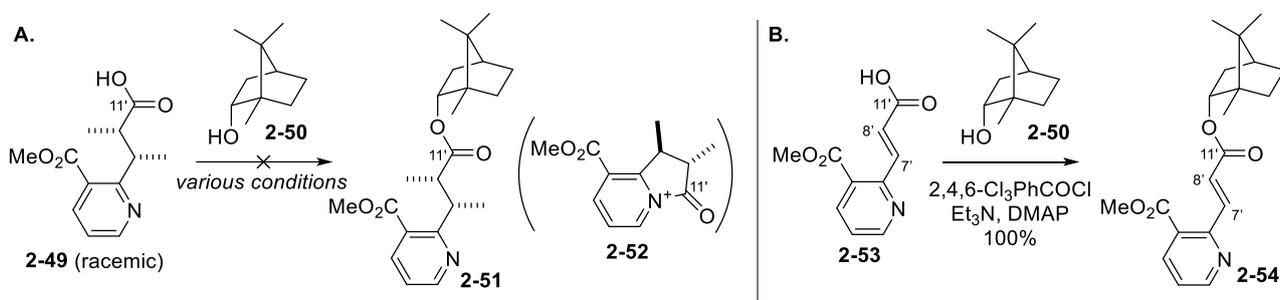
Scheme 2-5. Synthesis of B-ring **2-37**.

アガロフラン骨格の構築とAB環の官能基化により、**2-20**を全合成した(Scheme 2-6)。トリオール**2-37**の1級アルコールのみをTBDPS基で保護した後、I<sub>2</sub>によるヨードエーテル環化で、立体選択的にC環を構築した。**2-39**のヨウ素をラジカル条件で水素へと変換後、1級TBS基のみを除去して**2-41**とした。次に、ジオール**2-41**をDess–Martin酸化してケトアルデヒド**2-42**に変換した。**2-42**に対してWittig反応でC3位を増炭し、ジエン**2-43**を得た。**2-43**は剛直な三環性骨格上に酸素官能基が高度に密集しているため、鍵反応であるRCMによるA環構築は極めて困難であった。検討の結果、**2-43**に対して触媒**A**を用いることでRCMが効率良く進行することを見出し、アガロフラン骨格を有する**2-24**の合成を実現した。**2-24**のC8位ケトンにTMSエノールエーテルとした後、CF<sub>3</sub>CO<sub>3</sub>Hによる酸化で、C9位に立体選択的に酸素官能基を導入し、**2-44**とした。**2-44**をLuche還元条件に付すことで立体選択的にケトンを還元し、得られた**2-45**のシスジオールを保護した後、TBS基を除去して**2-46**を得た。ラクトン**2-46**をLiAlH<sub>4</sub>で還元的に開環し、トリオール**2-47**をTBS基で保護して**2-48**を得た。OsO<sub>4</sub>による立体選択的なジヒドロキシ化で、**2-48**をオイオニミノール保護体**2-22**へと変換した。最後に、脱保護とアセチル化により、**2-20**を総24工程で全合成した。



**Scheme 2-6. Total Synthesis of (-)-euonyminol octaacetate (2-20).**

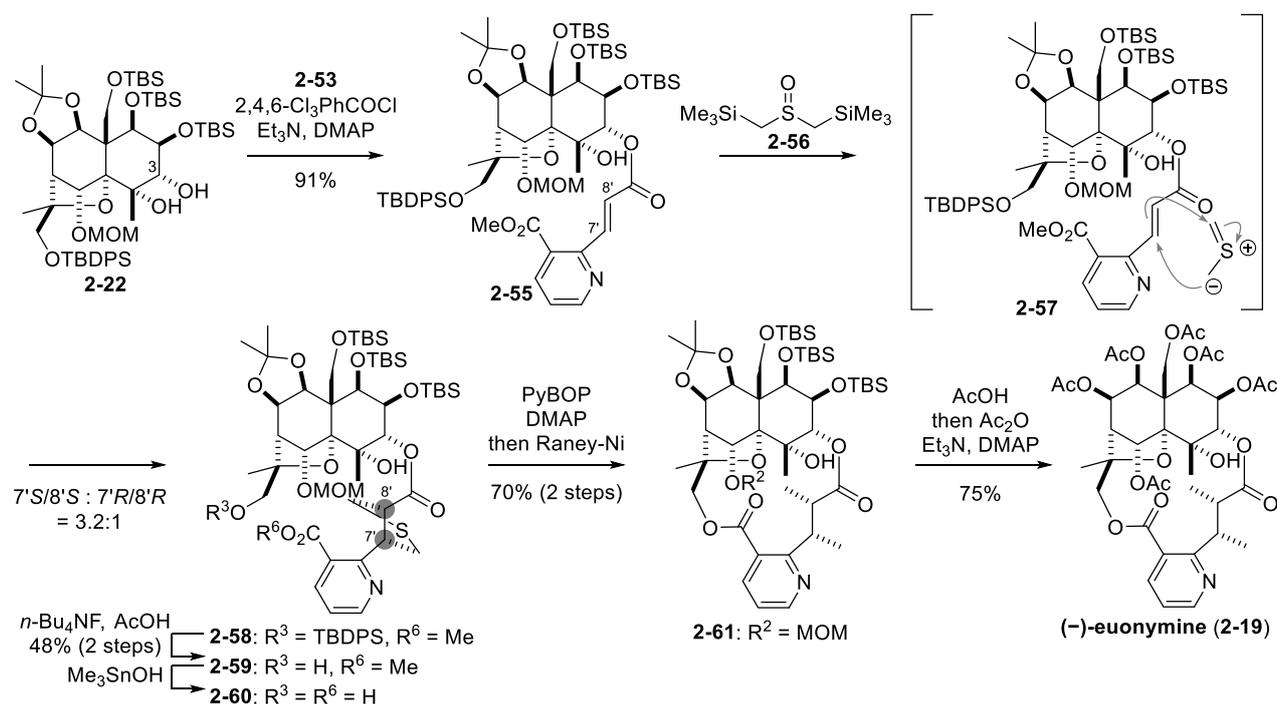
**2-19** の全合成において困難が予想されるマクロ環構築に向け、縮合のモデル実験を行った。**2-22** のモデル化合物として **2-50** を用い、エボニン酸誘導体 **2-49** の C11'位カルボン酸との縮合を種々検討した(Scheme 2-7)。しかし、これらの反応条件では、望む縮合体 **2-51** は得られず、原料 **2-49** からのピリジニウムカチオン **2-52** の生成が ESI-MS から示唆された。**2-52** は、C11'位カルボン酸が縮合剤で活性化された後、分子内のピリジンからの求核攻撃で生成する。すなわち、**2-52** へ至る分子内反応が分子間縮合に優先したと考察した。そこでこの副反応を抑え、縮合後にビシナルジメチル基を導入できるよう、二置換トランス不飽和カルボン酸 **2-53** を新たに設計した。**2-53** と **2-50** の縮合は円滑に進行し、良好な収率で縮合体 **2-54** を与えた。



**Scheme 2-7. Model experiments for condensation at C11' position.**

モデル実験で確立した条件を応用し、**2-22** から **2-19** を導いた(Scheme 2-8)。まず、オイオニミノール保護体 **2-22** とカルボン酸 **2-53** を縮合条件に付したところ、C3位ヒドロキシ基と C11'位カルボ

ン酸で縮合が進行し、エステル **2-55** を良好な収率で与えた。**2-55** の C7',8'位にジメチル基を導入するため、スルホキニド **2-56** を作用させた。その結果、系内で生じる 1,3-双極子との[3+2]付加環化が進行し(**2-55**→**2-57**)、所望の立体化学を有するテトラヒドロチオフェン **2-58** を主生成物として得た。*n*-Bu<sub>4</sub>NF および AcOH により、3 つの TBS 基存在下、TBDPS 基のみを化学選択的に除去し、**2-59** とした。Me<sub>3</sub>SnOH を作用させ、ビスエステル **2-59** のメチルエステルのみを変換し、カルボン酸 **2-60** を誘導した。続いて、**2-60** を PyBOP を用いた縮合条件に付すことでマクロ環化を進行させた。さらにワンポットで Raney-Ni を加えることで、還元的に脱硫させ、ジメチル基を有するビスラクトン **2-61** を得た。最後に、脱保護とアセチル化により、**2-19** の世界初の全合成を総 29 工程で達成した。



**Scheme 2-8.** Total synthesis of (-)-euonymine (**2-19**).

アガロフラン類の中で最も多くの酸素官能基を有する **2-20** および **2-19** の全合成をそれぞれ 24 および 29 工程で達成した。市販原料が有する 1 ヶ所の不斉点を足掛かりに、精密に設計した分子の三次元構造を利用した立体選択的な結合形成反応を駆使することで、**2-20** の全 11 ヶ所、**2-19** の全 13 ヶ所の立体化学の制御を実現した。[3+2]付加環化を利用した新たなマクロ環構築法を含む本合成戦略は、アガロフラン類だけでなく、多様な高酸化度天然物の全合成への応用が可能である。

### 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や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 ならびにイオンチャネル形成天然物グラミシジン A 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 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.由来の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( $\Delta$ Ile)およびデヒドロバリン( $\Delta$ 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。当研究室における機能解析により、**3-1** はミトコンドリア  $F_0F_1$ -ATP 合成酵素に結合し、同酵素の ATP 合成阻害作用と、逆反応である ATP 加水分解亢進作用を持つことが明らかになった。いずれの作用も細胞内 ATP 濃度の低下に寄与するため、これが **3-1** の顕著ながん細胞増殖抑制活性の作用機構であると想定されている。

本研究では、**3-1** に特徴的な  $\beta,\beta$ -ジアルキル  $\alpha,\beta$ -不飽和アミノ酸部位の幾何異性に着目し、**3-1** および幾何異性体 **3-2-3-8** を統一的に全合成して生物活性を評価することを目的とした。

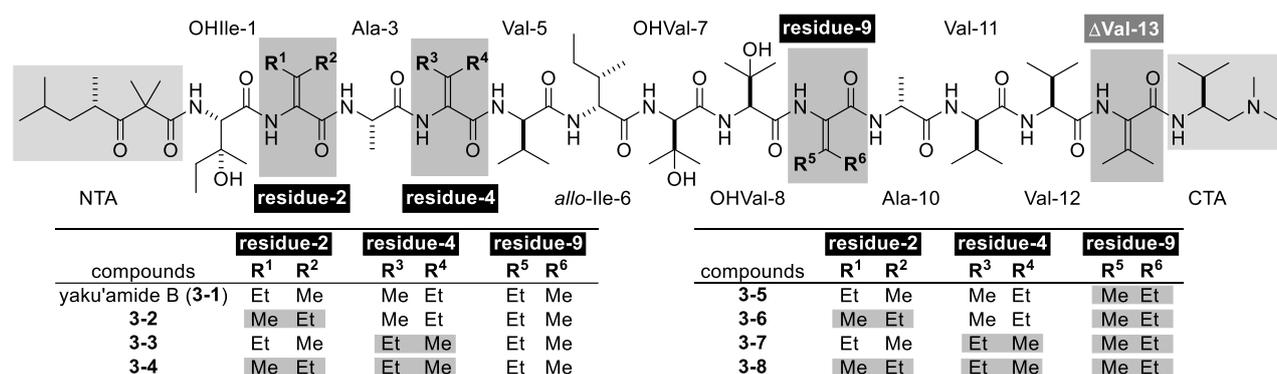


Figure 3-1. Structures of yaku'amide B (**3-1**) and seven *E/Z*-isomers.

幾何異性体群は、1 残基ごとの置換が容易な固相合成戦略により得ることが望ましいが、この実現のためには、固相での  $\beta,\beta$ -ジアルキル  $\alpha,\beta$ -不飽和アミノ酸部位の *E/Z* 選択的な構築法を確立する必要があった。そこで、我々が開発したメトキシ基、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とアルケニルアジドを用いる無痕跡型 Staudinger ライゲーションを応用し、固相上で  $\beta,\beta$ -ジアルキル  $\alpha,\beta$ -不飽和アミノ酸部位を構築することとした。すなわち、4 種類のホスフィノフェノールエステル **3-9-3-12**、3 種類のアルケニルアジド **3-13**、*E*-**3-14**、*Z*-**3-14**、4 種類の  $N_\alpha$ -Fmoc アミノ酸 **3-15-3-18**、N 末端アシル基 **3-19** を固相上で順次連結し、C 末端アミン **3-20** を切り出しと同時に導入することで、それぞれの幾何異性体を得ることとした(Figure 3-2)。

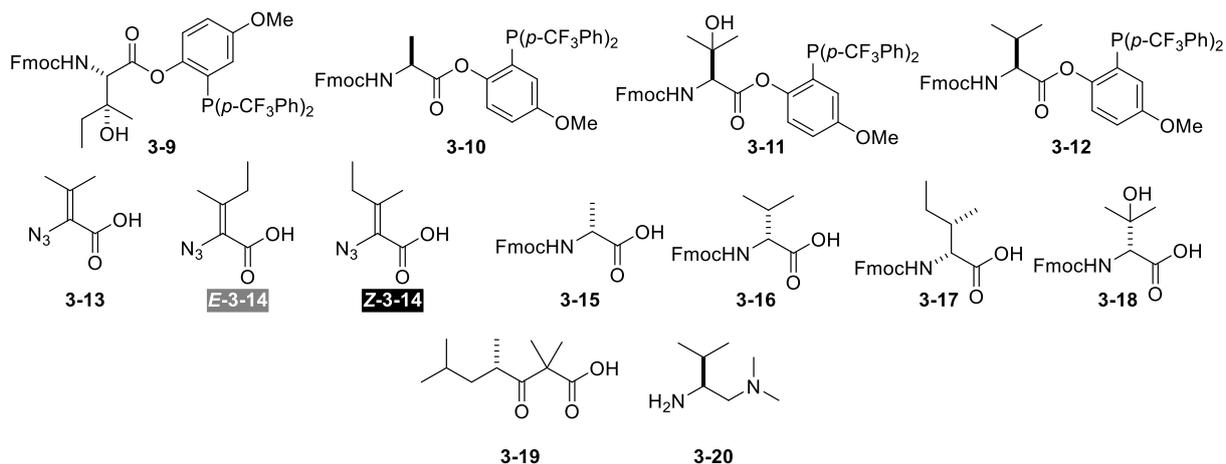
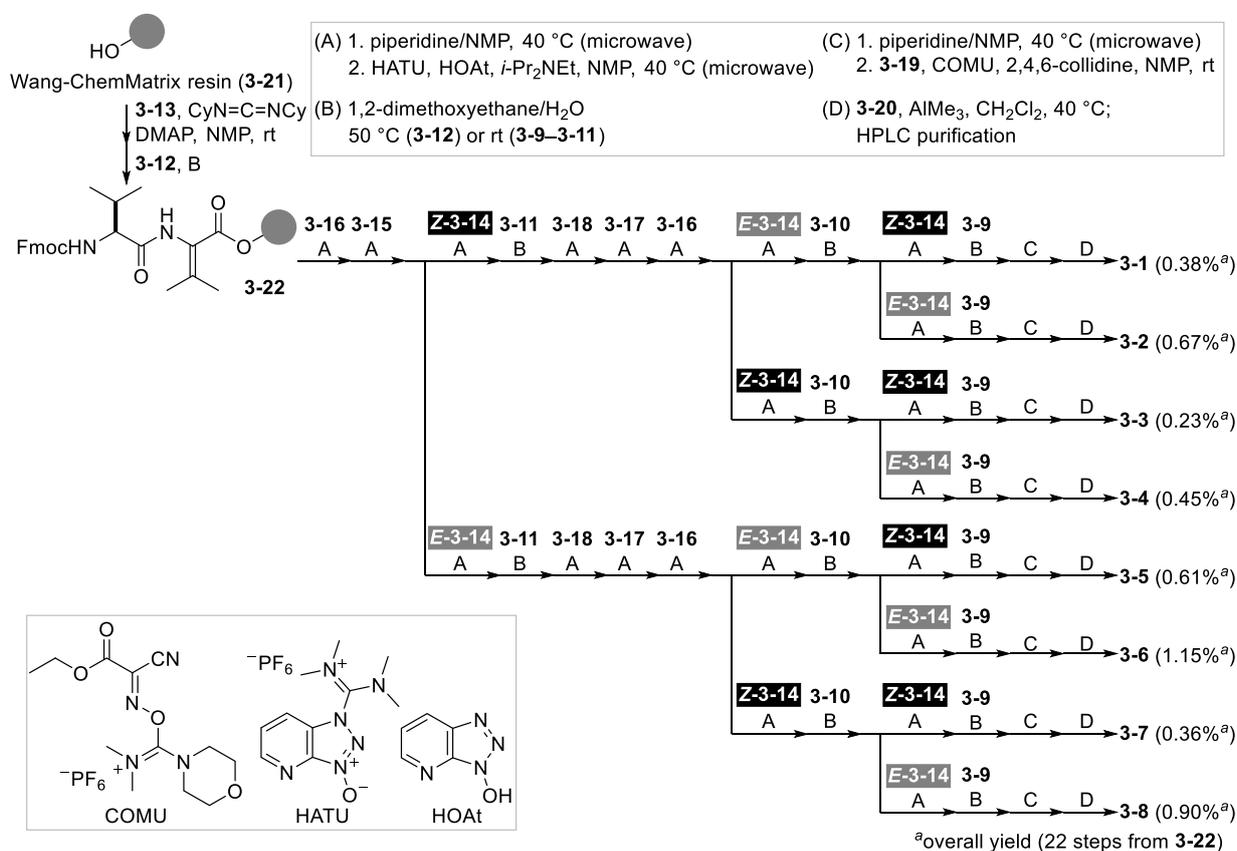


Figure 3-2. Synthetic components for 3-1–3-8.

固相合成には、多様な溶媒を許容する Wang-ChemMatrix 樹脂 **3-21** を担体として採用した。無痕跡型 Staudinger ライゲーションにおいて、1,2-ジメトキシエタンと水の混合溶媒を用いることで、効率的に **3-22** を構築できる上、*E/Z* 選択的に  $\beta,\beta$ -ジアルキル  $\alpha,\beta$ -不飽和アミノ酸部位を導入できることを見出した。本条件を用い、無痕跡型 Staudinger ライゲーションと  $N_\alpha$ -Fmoc アミノ酸の縮合を組み合わせてペプチド鎖を伸長した。最後に、 $\text{AlMe}_3$  を用いて **3-20** を C 末端に導入すると同時に樹脂から切断することで、**3-1** および幾何異性体 **3-2–3-8** の固相全合成を **3-22** から 22 工程で総収率 0.23–1.15% で達成した (Scheme 3-1)。



Scheme 3-1. Solid-phase total synthesis of 3-1–3-8.

続いて、7種類の幾何異性体のヒト乳がん細胞株 MCF-7 に対する増殖抑制活性と、F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATP 合成酵素に対する作用を評価した(Table 3-1)。幾何異性体のうち **3-2**、**3-4**、**3-5** は、天然物 **3-1** と同等の細胞増殖抑制活性を示した一方で、**3-3**、**3-6**、**3-7**、**3-8** は天然物よりも細胞増殖抑制活性が減弱した。また、ATP 合成酵素阻害活性と加水分解抑制活性についても、**3-1**、**3-2**、**3-4**、**3-5** が比較的強く、**3-3**、**3-6**、**3-7**、**3-8** では比較的弱いことが分かった。これら 3 つの生物活性の相関から、幾何異性体の細胞増殖抑制活性は、天然物 **3-1** と同様に F<sub>0</sub>F<sub>1</sub>-ATP 合成酵素への作用によって引き起こされることが示唆された。また、本研究は、天然物 **3-1** の有する  $\Delta$ Ile 部位の幾何異性が、強力な生物活性を発揮するために極めて重要であることを初めて明らかにした。

**Table 3-1.** Biological activities of **3-1–3-8**

compounds	growth inhibition activity (GI <sub>50</sub> value, nM) <sup>a,c</sup>	inhibition of ATP production (EC <sub>50</sub> value, nM) <sup>b,c</sup>	enhancement of ATP hydrolysis (EC <sub>50</sub> value, nM) <sup>d</sup>
<b>3-1</b>	18.2 ± 3.3	10.3 ± 2.3	121
<b>3-2</b>	25.4 ± 2.5	9.52 ± 1.79	168
<b>3-3</b>	57.6 ± 12.7*	21.6 ± 5.4*	230
<b>3-4</b>	24.6 ± 0.6	14.5 ± 5.4	148
<b>3-5</b>	32.0 ± 7.0	13.9 ± 5.1	145
<b>3-6</b>	62.8 ± 18.6**	18.7 ± 2.1	301
<b>3-7</b>	57.4 ± 7.7**	16.7 ± 4.7	182
<b>3-8</b>	64.2 ± 13.7**	27.6 ± 5.0**	396

<sup>a</sup>50% growth inhibition concentration (GI<sub>50</sub>) values against MCF-7 cells were determined by sulforhodamine B assay. <sup>b</sup>50% effective concentration (EC<sub>50</sub>) values were determined by evaluating the relative ATP production rate. <sup>c</sup>The mean values of three independent experiments are displayed with SD. <sup>d</sup>EC<sub>50</sub> values were calculated against the maximum relative ATP hydrolysis rate determined by adding 1 μM of **3-1**. \**p* < 0.05, \*\**p* < 0.01 determined by Dunnett's test.

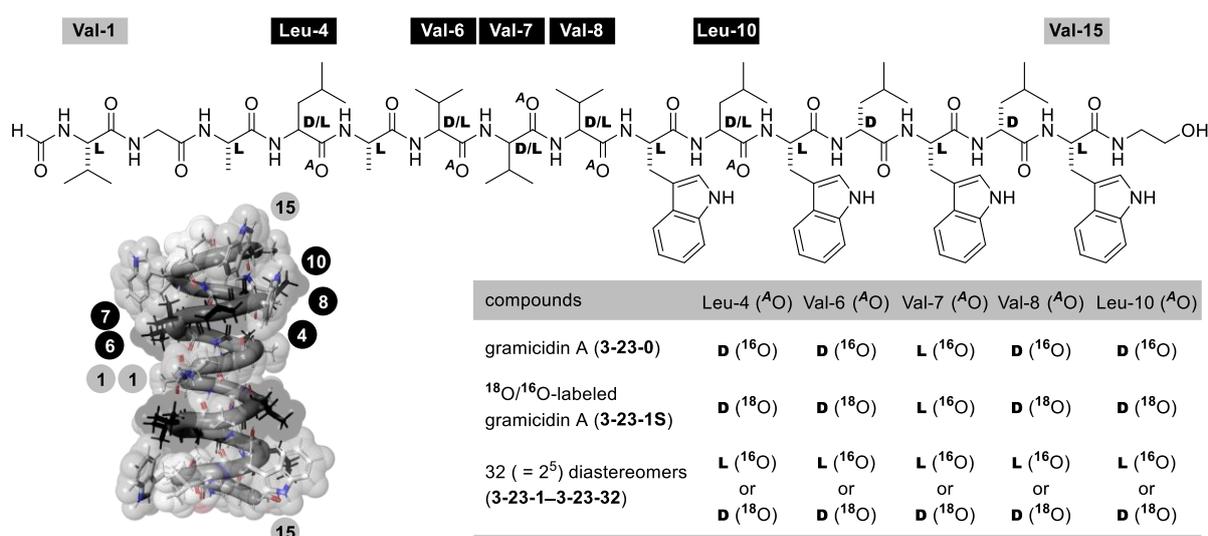
### 3-2. <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O 標識戦略によるペプチド系天然物のマイクロスケール構造決定

天然物の立体化学は分子の三次元構造を規定し、生物活性発現に密接に関わる。したがって、天然物の立体化学を決定することは、合成や機能研究を行う上で前提となる。一方で、構造決定対象となる化合物の単離量が限られることや、既存の構造分析法の基質適用限界等の理由から、天然物の立体化学決定を行うことは困難なことも少なくない。この状況下、想定されるジアステレオマー群の全合成に基づく構造決定は、最も強力かつ直接的な方法である。本研究では、ペプチド系天然物のジアステレオマー群の迅速かつ網羅的な合成と、マイクロスケールでの生物活性評価による立体化学決定法を新たに確立し、グラミシジン A (**3-23-0**, Figure 3-3)を用いた盲検試験による原理証明を行った。

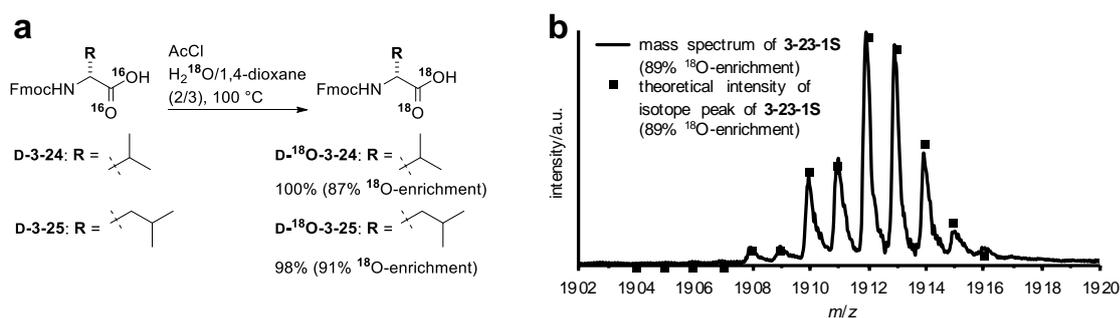
**3-23-0** は D,L-残基が交互に配列する特異な構造を有する。**3-23-0** が示す顕著な哺乳細胞毒性(IC<sub>50</sub> = 5.8 nM, P388 細胞)は、脂質二重膜で形成される β<sup>6,3</sup>ヘリックス二量体構造のイオンチャネル機能に由来する。このことから、**3-23-0** の細胞毒性には D/L-アミノ酸が交互に配列していることが重要であり、ジアステレオマー(**3-23-2–3-23-32**)では細胞毒性が失われると予想した。したがって、細胞毒

性評価によってジアステレオマー群から天然物を選出できると予想した。

そこで、**3-23-0** の第 4, 6, 7, 8, 10 残基の C $\alpha$ 位の立体化学をランダムに改変した 2<sup>5</sup> = 32 種類のジアステレオマー群(**3-23-1**–**3-23-32**)を、one-bead-one-compound (OBOC)法により構築することとした。OBOC 法は split-and-mix 合成によって固相担体上で構造をランダムに改変し、多様なビーズ結合型化合物群を得る方法である。各ビーズには異なる種類の化合物が結合しており、類縁体の迅速かつ網羅的な創出と、ビーズを分離後に化合物ごとの個別評価が可能である。このとき、D-アミノ酸のカルボン酸の酸素原子を安定同位体の <sup>18</sup>O で標識し、C $\alpha$ 位の立体化学をタンデム質量分析で識別することとした。上記方法により一挙に合成したジアステレオマー群から顕著な細胞毒性を示すジアステレオマーを選出し、選出化合物の立体化学が天然物 **3-23-0** と一致するかを検証した。



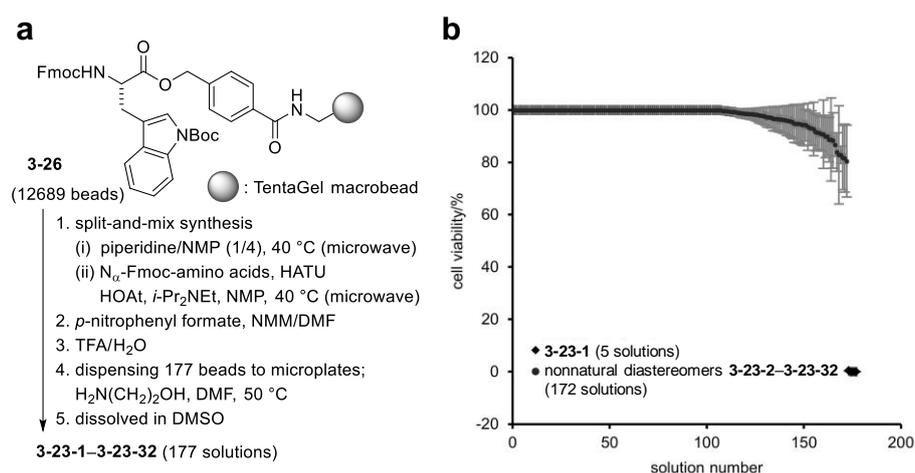
**Figure 3-3.** Structures of gramicidin A (**3-23-0**), <sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O-labeled gramicidin A (**3-23-1S**), 32 diastereomers **3-23-1**–**3-23-32** for the blind test. Three-dimensional structure of a channel-forming head-to-head dimer of **3-23-0** (PDB ID: 1MAG) is also displayed.



**Figure 3-4.** (a) Preparation of D-<sup>18</sup>O-3-24 and D-<sup>18</sup>O-3-25. (b) Mass spectrum of **3-23-1S** (89% <sup>18</sup>O-enrichment) and theoretical intensity of isotope peaks of **3-23-1S** prepared using D-<sup>18</sup>O-3-24 (87% <sup>18</sup>O-enrichment) and D-<sup>18</sup>O-3-25 (91% <sup>18</sup>O-enrichment). a.u. = arbitrary unit.

まず、Fmoc-D-Val-OH (**D-3-24**), Fmoc-D-Leu-OH (**D-3-25**)を、酸触媒共存下 H<sub>2</sub><sup>18</sup>O と加熱し、立体化学の標識に用いる <sup>18</sup>O 標識アミノ酸 D-<sup>18</sup>O-3-24, D-<sup>18</sup>O-3-25 を調製した(Figure 3-4a)。これらを HATU, HOAt を用いる固相合成条件によって第 4, 6, 7, 8, 10 残基に導入し、<sup>18</sup>O/<sup>16</sup>O 標識グラミシジン A (**3-23-1S**)を固相合成した。ESI-MS で **3-23-1S** を分析したところ、縮合時の <sup>18</sup>O 損失は観測可能なレ

ベルでは生じておらず、固相合成の過程で立体化学を質量情報に対応付けることが可能であることが実証された(Figure 3-4b)。これに基づき、32種類の $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 標識ジアステレオマー**3-23-1-3-23-32**を、ビーズ結合型アミノ酸**3-26**からOBBOC法により構築した(Figure 3-5a)。各アミノ酸のsplit-and-mix法による縮合後、ホルミル基の導入、側鎖の脱保護を経て、ビーズを分離後にエステルアミド交換に付した。このようにして得られた12,689個のビーズ由来化合物からランダムに177個を抽出して、マウス白血病細胞株P388に対する細胞毒性試験を行い、タンデム質量分析により構造決定した。その結果、顕著な細胞毒性を示した5個の化合物は、全て天然物**3-23-0**と同じ立体化学を持つ $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ 標識ジアステレオマー**3-23-1**であった。一方で、細胞毒性を示さない172個の化合物は非天然の立体化学を持つジアステレオマー**3-23-2-3-23-32**であることがわかった(Figure 3-5b)。以上より、本戦略によるペプチド系天然物の立体化学決定が可能であることを示した。マイクロスケールでの網羅的ジアステレオマー群合成、生物活性評価および質量分析による本戦略は、構造決定のためのジアステレオマー合成に要する資源を減ずることができ、迅速に実施可能であるため、多数の立体化学が未決定な天然物にも応用可能である。



**Figure 3-5.** (a) Split-and-mix synthesis of **3-23-1-3-23-32**. (b) Cell viability data of the 177 bead-derived peptide solutions.

## 学 術 論 文

- 1) Y. Wang, T. Nagai, I. Watanabe, K. Hagiwara, M. Inoue, "Total Synthesis of Euonymine and Euonyminol Octaacetate," *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 21037-21047.
- 2) H. Hamamoto, S. Panthee, A. Paudel, K. Ishii, J. Yasukawa, J. Su, A. Miyashita, H. Itoh, K. Tokumoto, M. Inoue, K. Sekimizu, "Serum apolipoprotein A-I potentiates the therapeutic efficacy of lysocin E against *Staphylococcus aureus*," *Nat. Commun.* **2021**, *12*, Article number: 6364.
- 3) A. Hirose, A. Watanabe, K. Ogino, M. Nagatomo, M. Inoue, "Unified Total Syntheses of Rhamnofolane, Tigliane, and Daphnane Diterpenoids," *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 12387-12396.
- 4) A. Takeuchi, H. Itoh, M. Inoue, " $^{18}\text{O}/^{16}\text{O}$ -Encoding Strategy for Microscale Stereochemical Determination of Peptidic Natural Products," *Chem. Asian J.* **2021**, *16*, 2447-2452.

- 5) K. Kamiya, H. Itoh, M. Inoue, "Generation and Biological Evaluation of Degraded Derivatives of the Three *E/Z*-Isomers of Yaku'amide B," *J. Nat. Prod.* **2021**, *84*, 1854-1859.
- 6) H. Mutoh, S. Nakamura, K. Hagiwara, M. Inoue, "Construction of Pentacyclic Limonoid Skeletons via Radical Cascade Reactions," *J. Org. Chem.* **2021**, *86*, 6869-6878.
- 7) K. Kamiya, K. Miura, H. Itoh, M. Inoue, "Divergent Solid-Phase Synthesis and Biological Evaluation of Yaku'amide B and Its Seven *E/Z* Isomers," *Chem. Eur. J.* **2021**, *27*, 1088-1093.

### 総 説・著 書

- 8) H. Itoh, M. Inoue, "Development of a High-Throughput Strategy for Functional Enhancement and Alteration of Antibacterial Natural Products," *J. Synth. Org. Chem., Jpn.* **2021**, *79*, 996-1004.
- 9) H. Fujino, M. Nagatomo, M. Inoue, "Total Syntheses of Hikosamine and Hikizimycin," *J. Org. Chem.* **2021**, *86*, 16220-16230.
- 10) T. Shimakawa, K. Hagiwara, M. Inoue, "Total Synthesis of Talatisamine: Exploration of Convergent Synthetic Strategies," *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2021**, *94*, 973-983.
- 11) M. Nagatomo, M. Inoue, "Convergent Assembly of Highly Oxygenated Natural Products Enabled by Intermolecular Radical Reactions," *Acc. Chem. Res.* **2021**, *54*, 595-604.

### 受 賞

- 1) 長友優典, “「逆」生合成経路に基づく稀少海洋産ノルジテルペン類の網羅的全合成戦略の確立,” 有機合成化学協会 第一三共研究企画賞
- 2) 伊藤寛晃, “ペプチド系複雑天然物の固相全合成と類縁体群構築を基盤とした機能研究,” 第 20 回天然物化学談話会奨励賞
- 3) 伊藤寛晃, “ペプチド系複雑天然物の固相全合成と類縁体群構築を基盤とした機能研究,” 令和 3 年度日本薬学会奨励賞
- 4) 藤野遙, 第 38 回井上研究奨励賞
- 5) 王瀛華(博士課程 3 年), “オイオニミノールオクタアセテートの不斉全合成,” 日本薬学会 第 141 年会 学生優秀発表賞
- 6) 廣瀬哲(博士課程 3 年), “クロトホルボロン、ランドイン A およびプロストラチンの全合成,” 日本薬学会 第 141 年会 学生優秀発表賞
- 7) 島川典(博士課程 3 年), “Synthetic Study of Puberuline C,” Pacificchem 2021 Student Poster Competition Award
- 8) 渡邊歩(博士課程 3 年), “Total Synthesis of Resiniferatoxin,” Pacificchem 2021 Student Poster Competition Award
- 9) 渡邊歩(博士課程 3 年), “レジニフェラトキシンの短工程全合成,” 第 19 回次世代を担う有機化学シンポジウム 優秀発表賞

- 10) 渡辺崇央(博士課程 2 年), “タキソールの合成研究,” 第 50 回複素環化学討論会 優秀発表賞
- 11) 高岡恭兵(修士課程 1 年), “タキソール CD 環部の合成研究,” 第 65 回日本薬学会関東支部大会 優秀口頭発表賞

### 招待講演

- 1) M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," PACIFICHEM, Honolulu, Hawaii, USA, Online, December 18, 2021.
- 2) M. Inoue, "Total Synthesis and Biological Evaluation of Peptide Natural Products," PACIFICHEM, Honolulu, Hawaii, USA, Online, December 18, 2021.
- 3) M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," Department of Chemistry, University of Oxford, Oxford, UK, November 18, 2021.
- 4) 井上将行, “薬を創る化学,” 高校生のための東京大学オープンキャンパス 2021 模擬講義, 東京大学, 東京都, 文京区, 2021 年 7 月 10 日
- 5) 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,” 日本プロセス化学会 2021 サマーシンポジウム, オンライン, 2021 年 6 月 24 日
- 6) 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, 2021 年 6 月 11 日
- 7) 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 回万有福岡シンポジウム, 九州大学, 福岡県, 福岡市, オンライン, 2021 年 6 月 5 日
- 8) 井上将行, “ラジカル反応による複雑分子構築の単純化,” 日本薬学会第 141 年会(広島), 一般シンポジウム S08 「ハイブリッド触媒」, オンライン, 2021 年 3 月 27 日
- 9) 井上将行, “ラジカル反応による複雑分子構築の単純化,” 新学術領域研究「ハイブリッド触媒」第 4 回公開シンポジウム, 金沢大学 十全講堂, 石川県, 金沢市, オンライン, 2021 年 1 月 21 日
- 10) 伊藤寛晃, 井上将行, “OBOC ライブラリー戦略に基づくペプチド系天然物の機能制御,” 第 65 回日本薬学会関東支部大会, オンライン, 2021 年 9 月 11 日
- 11) 伊藤寛晃, “ペプチド系複雑天然物の全合成を基盤とした機能解明・新機能分子創出,” 日本薬学会第 141 年会(広島), 奨励賞受賞講演, オンライン, 2021 年 3 月 29 日
- 12) 徳本皓太郎, 加治拓哉, 伊藤寛晃, 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,” 日本薬学会第 141 年会(広島), 一般シンポジウム S09 「独創的な創薬研究は如何にして生まれたか? ~2020 年度医薬化学部会賞ならびに 2019 年度 MCS 優秀賞 受賞講演~」, オンライン, 2021 年 3 月 27 日