

◆ 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。

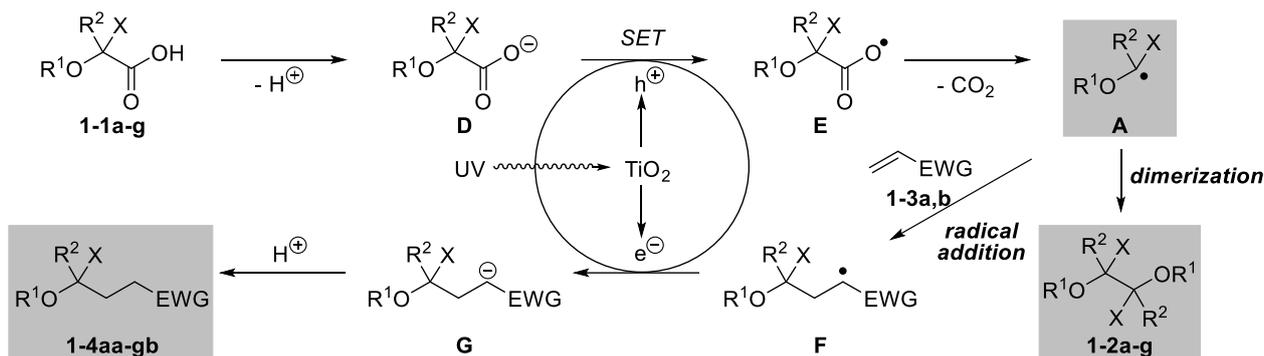
炭素ラジカル種を介した炭素-炭素(C-C)結合形成反応は、高化学選択的であり、中性条件下進行するため、天然物の全合成において強力かつ実践的な手法になりうる。そこで我々は、高度に極性官能基化された部分構造の収束的連結への展開を目指し、橋頭位ラジカルを利用した反応や α -ヘテロ炭素ラジカル種を用いたC-C結合形成反応の開発に取り組んでいる。本年は、TiO₂による脱炭酸型ラジカルカップリングを鍵とした高酸化度炭素骨格の構築法を開発した。以下にその詳細を示す。

1.1 TiO₂による脱炭酸型ラジカルカップリングを鍵とした高酸化度炭素骨格の構築

有機テルリドは優れた反応性を有し、我々は前年度までにその実用性を示してきた。しかし、有機テルリドはカルボン酸から別途調製する必要があり、また、廃棄による環境負荷が大きいという問題があった。これらの課題を克服するため、我々はカルボン酸からの直截的なラジカル発生法に着目した。代表的なラジカル発生法として、可視光照射下、希少遷移金属触媒を用いた photoredox 反応が挙げられる。しかし、これらの反応に用いられる触媒は高価である。また、通常反応は塩基の存在下行われるため、基質適用範囲にも課題を残している。そのため、カルボン酸からのこうした脱炭酸型ラジカルカップリングは、複雑な天然物の合成への応用例が少ない。我々は、環境への負担が少なく、安価な(¥ 4.8/g)TiO₂に焦点を当てた。TiO₂は単体で光触媒としての機能を有し、温和な条件下で反応を行える。

TiO₂を用いた二量化や付加反応はすでに報告されているものの、反応基質が極めて単純なものに限られており、さらなる検討の余地があった。我々は天然物全合成への応用を志向し、基質適用範囲の拡張と新規ラジカル発生法の開発研究に着手した。

α -アルコキシカルボン酸からの脱炭酸型ラジカルカップリングを計画した(Scheme 1-1)。TiO₂に光照射を行うと、価電子帯に存在する電子が励起される。この際、価電子帯には正電荷を有する正孔(h⁺: hole)が生じる。一方、カルボン酸 **1-1** に TiO₂ を作用させると、TiO₂ 表面に存在するヒドロキシ基の水素結合によってカルボン酸が誘引され、脱プロトン化が促進される。生じたカルボキシルアニオン **D** は正孔によって酸化され、カルボキシルラジカル **E** となる。**E** からは脱炭酸反応が進行し、 α -アルコキシラジカル **A** を与える。2分子の **A** からカップリング反応が進行すると、二量体 **1-2** が得られる。また、求電子オレフィン **1-3** の存在下では、**A** の **1-3** への付加反応が進行し、**F** を与える。**F** は TiO₂ 上に蓄積された電子によって還元され、アニオン **G** となる。**G** がプロトン化されることで、付加体 **1-4** が得られる。



Scheme 1-1. Plan for decarboxylative coupling using TiO₂.

まず、二量化反応の条件検討を行った。その結果、Pt のドーブにより触媒効率が上昇した市販の TiO₂ である MPT-623(石原産業)を、EtOAc 溶媒中で作用させた際、最も収率良く反応が進行することを見出した。本反応は、既存の手法(350 nm)よりも長波長の光(390 nm LED)の照射下で行うことが出来た。最適化した条件をカルボン酸 **1-1c-g** に適用すると、アシルテルリドを経由した二量化反応と同程度、もしくはそれ以上の収率で二量体 **1-2c-g** が得られた(Table 1-1)。特に、アシルテルリドの調製が中程度の収率となっていた **1-1f** の反応において、二量体 **1-2f** の収率を大幅に向上させることに成功した(Table 1-1)。

substrate	results ^a	substrate	results ^a
 1-1c-g	 1-2c-g	 1-1f	 1-2f
R = Me (1-1c) (90%) ^b	1-2c : 73%, 48:52:0 (68%, 2 steps, 49:51:0)	X = O (1-1f) (60%) ^b	1-2f : 56%, 45:50:0 (25%, 2 steps, 41:59:0)
R = Bz (1-1d) (85%) ^b	1-2d : 43%, 46:47:7 (58%, 2 steps, 35:55:10)	X = H, H (1-1g)	1-2g : 55%, 33:50:17 ^c
R = Bn (1-1e) (97%) ^b	1-2e : 43%, 46:47:7 (59%, 2 steps, 45:55:0)		

^aNMR ratio (α:αβ:ββ). ^bYield of acyl telluride formation (substrate) and dimerization (results). ^cMPT-623 (5.0 eq).

Table 1-1. Dimerization of α-alkoxy carboxylic acids.

さらに、本条件を付加反応に応用した。その結果、二量化に比して少ない TiO₂ の当量で付加反応が完結した。特に、**1-3a** や **1-3b** のように塩基存在下で損壊し得るラジカル受容体への付加が高収率で進行し、従来の脱炭酸型カップリングの条件では困難が予想される反応を実現した(Table 1-2)。

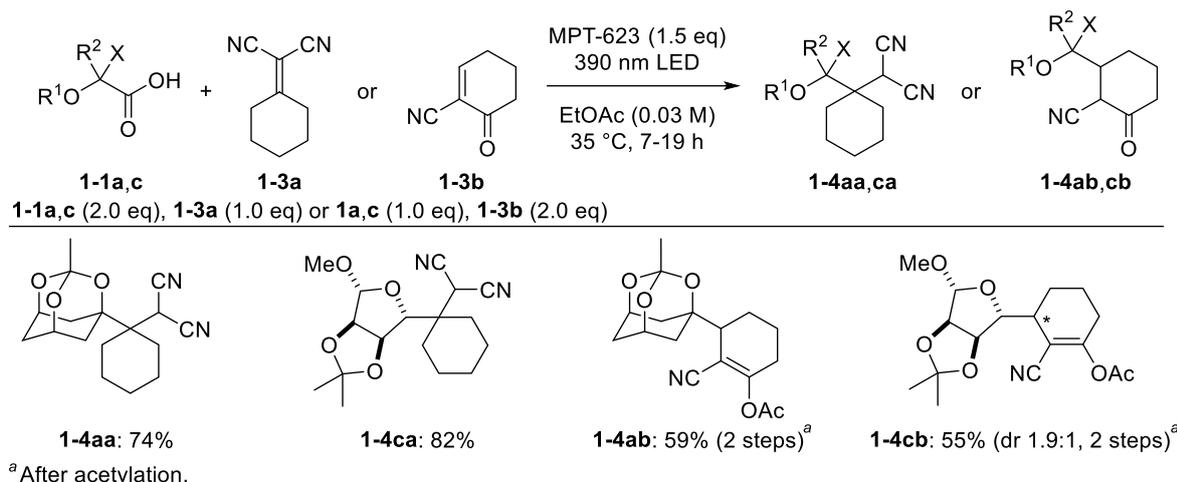


Table 1-2. Radical addition to electrophilic olefins.

確立した本合成反応は、温和な条件で進行するため高酸化度天然物・医薬品の新規合成戦略の構築へ有用である。

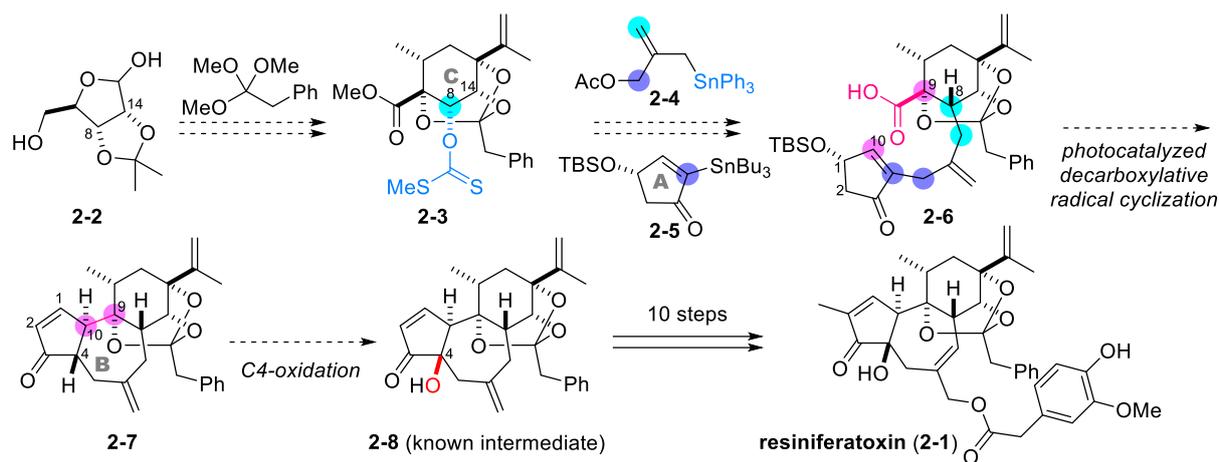
2. 生物活性天然物の全合成研究

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、強力な鎮痛活性を示すレジニフェラトキシン(**2-1**)の全合成を達成した。また、C19 ジテルペンアルカロイドであるプベルリン C (**2-37**)の全合成を達成した。以下にその詳細を示す。

2-1. レジニフェラトキシンの全合成

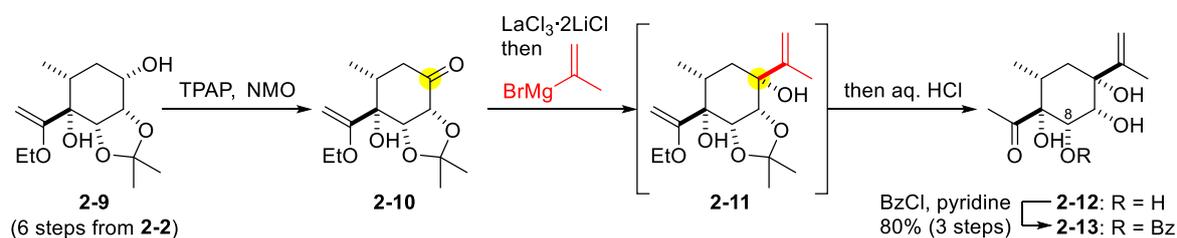
レジニフェラトキシン(**2-1**, Scheme 2-1)は、トウダイグサ科の植物 *Euphorbia resinifera* より単離・構造決定された、強力な鎮痛活性を示す複雑天然物である。その鎮痛活性がオピオイド受容体を介さずに発現する特長が有望視され、**2-1** はがん性疼痛の新規鎮痛薬として現在米国で臨床試験が進んでいる。**2-1** はトランス縮環した 5/7/6 員環上に多数の酸素官能基と、3 つの 4 置換炭素を含む 7 つの連続不斉中心および特異なオルトエステルを有する。**2-1** の全合成は 2017 年および 2021 年に当研究室で達成されている。今回、我々は光触媒による脱炭酸型ラジカル環化反応を鍵として、41 工程を要していた 2017 年の第一世代全合成を短工程かつ量的供給性に優れた合成に改良した。

Scheme 2-1 に **2-1** の合成計画を示した。出発原料の D-リボース誘導体 **2-2** からフェニル酢酸オルトエステルを導入したキサントゲン酸エステル **2-3** を導く。C8 位ラジカルアリル化と Stille カップリングの後、橋頭位ラジカル前駆体であるカルボン酸 **2-6** を合成する。このカルボン酸から光脱炭酸型ラジカル環化反応により、三環性化合物 **2-7** が合成できると予想した。最後に C4 位ヒドロキシ基の導入を行うことで第一世代合成中間体 **2-8** を導き、**2-1** の全合成を達成する。



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

まず、C環フラグメント合成の序盤におけるトリオール **2-13** の改良合成を行った(Scheme 2-2)。D-リボース誘導體から既知の6工程の変換で **2-9** とし、第二級アルコールを酸化することで、ケトン **2-10** とした。第一世代全合成では、ケトン **2-10** に対して18当量の *t*-BuLi から調製した過剰量の $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{Me})\text{Li}$ を付加させていたが、収率は中程度であった。そこで $\text{LaCl}_3 \cdot 2\text{LiCl}$ 存在下、より塩基性の低い $\text{H}_2\text{C}=\text{C}(\text{Me})\text{MgBr}$ を作用させると付加が円滑に進行した。従来単離していた **2-11** のビニルエーテルとアセトニドをワンポットで加水分解し、テトラオール **2-12** を導いた。**2-12** のC8位ヒドロキシ基を選択的にベンゾイル化し、**2-13** の改良合成を完了した(3工程 80% vs 4工程 45%)。

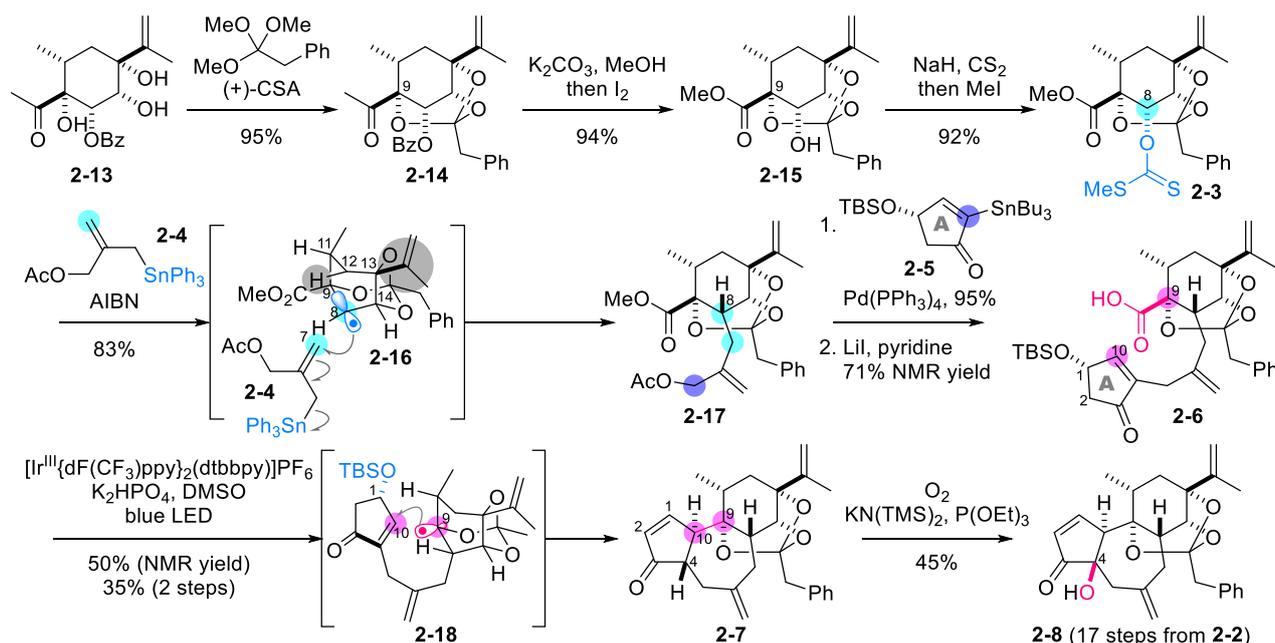


Scheme 2-2. Installation of isopropenyl group and one-pot hydrolysis.

第一世代全合成中間体 **2-8** の合成を行った(Scheme 2-3)。まず、**2-13** に対してフェニル酢酸オルトエステルを導入し **2-14** を得た。塩基性メタノール条件下ベンゾイル基を除去した後、続けてヨウ素を加えることでC9メチルエステル **2-15** とした。C8位ヒドロキシ基をキサントゲン酸エステル化した後、C8位ラジカルアリル化を行ったところ、アリルアセテート **2-17** が単一生成物として高収率で得られた。**2-3** より生じる第2級ラジカル **2-16** に対し、アリルスズが β -H12 およびイソプロペニル基を避けるように接近した結果、C8位に関する高立体選択性が発現したと考察した。続いて **2-17** をビニルスズ **2-5** との Stille カップリングに付しA環フラグメントを連結した後、LiI による脱メチル化によりラジカル前駆体である橋頭位カルボン酸 **2-6** を合成した。次に Ir 触媒による光脱炭酸型ラジカル環化反応を行った。その結果、三環性化合物 **2-7** を単一生成物として得た。橋頭位ラジカル **2-18** が C1-OTBS 基を避けるようにラジカル環化することで、立体障害の高い C9-C10 結合が C9位立体特異的・C10位立体選択的に形成され、その後 C1-OTBS 基が脱離することでエノン **2-7** に至ったと考察した。最後に C4位の酸素酸化により第一世代全合成中間体 **2-8** を原料 **2-2** から17工程

で合成することに成功した。**2-1** は **2-8** から 10 工程で導けるため、**2-1** の全合成を総 27 工程で達成できる。本合成では 14 工程の削減と 40 倍の収率向上を実現した(**2-9** から **2-8** まで: 8.2% vs 0.2%)。

我々は、ラジカルアリル化と Stille カップリングによる連続的なフラグメント導入、および橋頭位カルボン酸 **2-6** の光脱炭酸型ラジカル環化反応による効率的な骨格構築法をもとに、レジニフェラトキシシ (**2-1**) の合成研究を行った。本合成戦略により、新規鎮痛薬として創薬上重要な **2-1** の短工程かつ量的供給性に優れた全合成を実現した。本研究において、カルボン酸をラジカル前駆体に用いる合成戦略が、立体障害の高い C-C 結合形成に威力を発揮した。基質・保護基設計と骨格構築・官能基変換が調和した本合成法は、さらに高度に酸素官能基化された **2-1** の類縁天然物の全合成へ応用展開できる。



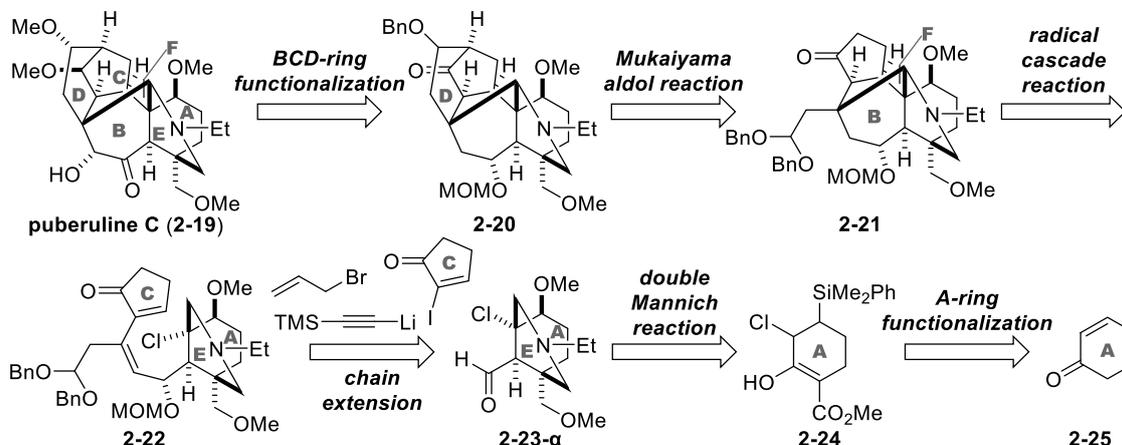
Scheme 2-3. Synthesis of known intermediate **2-8**.

2-2. プベルリン C の全合成

C19 ジテルペンアルカロイドに属するプベルリン C (**2-19**)は、6/7/5/6/6/6 員環からなる特異な 6 環性骨格(ABCDEF 環)上に、3 つの第四級炭素を含む 12 連続不斉中心と、第三級アミンおよび 6 つの酸素官能基が密集した極めて複雑な構造を有する(Scheme 2-4)。そのため、**2-19** の全合成は有機合成化学的に極めて挑戦的であり、これまで報告例は存在しなかった。我々は、連続ラジカル環化反応および向山アルドール反応を組み合わせた効率的な骨格構築法を開発し、**2-19** の世界初の全合成を達成した。以下に、その詳細を述べる。

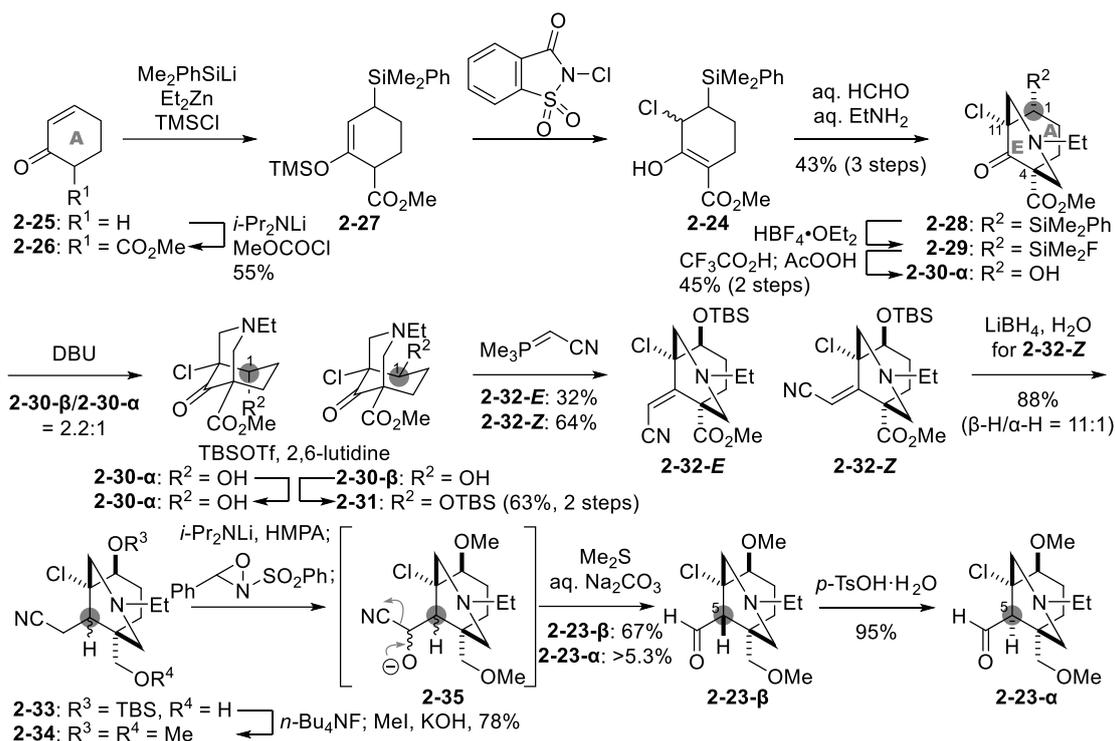
プベルリン C (**2-19**)の合成計画を Scheme 2-4 に示す。6 環性化合物 **2-20** に対する BCD 環上の位置・立体選択的な官能基変換により、**2-19** を合成する。5 環性化合物 **2-21** から、向山アルドール反応を用いて **2-20** の D 環を環化する計画を立てた。**2-21** の BF 環は、橋頭位ラジカル種を用いる連続ラジカル環化反応により、3 環性化合物 **2-22** から一挙に構築できると予想した。この際、橋頭位ラジカル発生源として、化学的に安定な塩素原子を選択した。3 環性化合物 **2-22** は、2 環性化合物 **2-23- α**

に対して、位置・立体選択的に3種類の炭素鎖を順次連結することで導く。**2-23- α** は、連続 Mannich 反応によるアザビシクロ[3.3.1]骨格構築を鍵として、**2-24**より合成する。**2-24**は、2-シクロヘキセノン(**2-25**)に対して、3種類の官能基を位置選択的に導入して得ることとした。



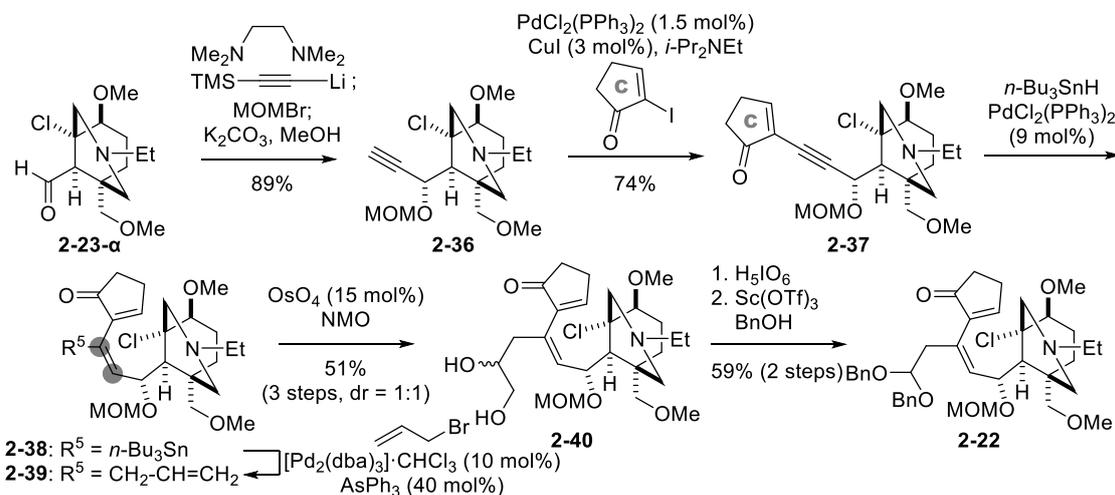
Scheme 2-4. Retrosynthetic analysis of puberuline C (**2-19**).

2-シクロヘキセノン(**2-25**)から、アザビシクロ[3.3.1]骨格の構築と位置・立体選択的な官能基変換を行い、2環性アルデヒド**2-23- α** を合成した(Scheme 2-5)。まず、**2-25**を位置選択的に官能基化し、**2-24**へと変換した。**2-25**のケトン α 位へメトキシカルボニル基を導入した後、TMSCl存在下ジメチルフェニルシリル基を1,4-付加させ、**2-27**を得た。続いて、*N*-クロロサッカリンを用いてラジカル発生源である塩素原子を導入し、**2-24**とした。**2-24**に対してホルマリンとエチルアミンを作用させると、連続 Mannich 反応が進行し、アザビシクロ骨格および C4, C11 位の第四級炭素を一挙に構築できた。得られた**2-28**を Fleming-玉尾酸化反応条件に付し、C1位へ酸素官能基を導入した。本反応は、第三級アミンを損なうことなく C1位立体特異的に進行し、C1位に α 配向のヒドロキシ基を有する**2-30- α** を与えた。続いて、**2-30- α** のアルドール構造を利用して C1位の立体化学を反転させた。すなわち、**2-30- α** を DBU で処理した結果、熱力学的により安定かつ所望の C1位立体化学を有する**2-30- β** を、**2-30- α** との混合物として得た(**2-30- β** /**2-30- α** = 2.2:1)。この混合物のうち、より立体障害の小さい**2-30- β** のエカトリアル配向のヒドロキシ基のみを TBS 基で保護した。得られた**2-31**のケトンを足掛かりとして C5, C6 位の官能基化を行った。まず、**2-31**に角田試薬を作用させて増炭を行い、不飽和ニトリル**2-32-*E***および**2-32-*Z***を得た。幾何異性体を分離後、それぞれを**2-23- α** へと変換した。ここでは、**2-32-*Z***からの変換について述べる。**2-32-*Z***の不飽和ニトリルの1,4-還元およびメトキシカルボニル基の還元を同時に行い、アルコール**2-33**とした。**2-33**の TBS 基を除去した後、ワンポットにて2つのヒドロキシ基を一挙にメチル化し、**2-34**を導いた。続いて、強塩基条件下**2-34**のシアノ基 α 位を酸化し、得られた**2-35**からシアノ化物イオンを脱離させることで、アルデヒド**2-23- β** を主生成物として得た。酸性条件にて**2-23- β** の C5位立体反転を行い、**2-23- α** の合成を完了した。



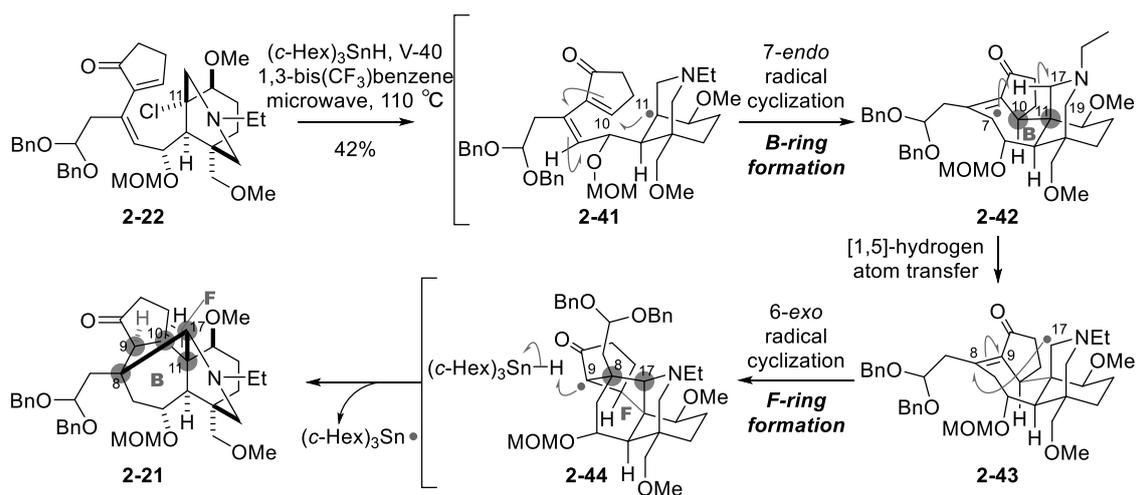
Scheme 2-5. Synthesis of azabicyclic aldehyde **2-23-α**.

2環性アルデヒド **2-23-α** に対して3種類の炭素鎖を順次連結し、**2-19**の全炭素および後の環化反応に必要な全ての官能基を有する3環性化合物 **2-22** を調製した(Scheme 2-6)。まず、**2-23-α**のアルデヒドに対し、TMEDA存在下、TMSアセリドを立体選択的に付加させた。ワンポットにて、生じたアルコキシドへのMOM基の導入とTMS基の除去を順次行い、**2-36**を得た。続いて、菌頭カップリングを用いてC環フラグメントを連結した。得られた**2-37**の内部アルキン位置・立体選択的にヒドロスタニル化することで、所望の幾何異性を有する三置換オレフィンの構築および側鎖導入の足掛かりとなる官能基を導入し、**2-38**とした。Stilleカップリング反応によりアリル基を導入した後、得られた**2-39**の末端オレフィンを化学選択的にジヒドロキシ化し、**2-40**を導いた。最後に、1,2-ジオールの酸化的開裂と生じたアルデヒドのジベンジルアセタール化を行い、**2-22**を合成した。



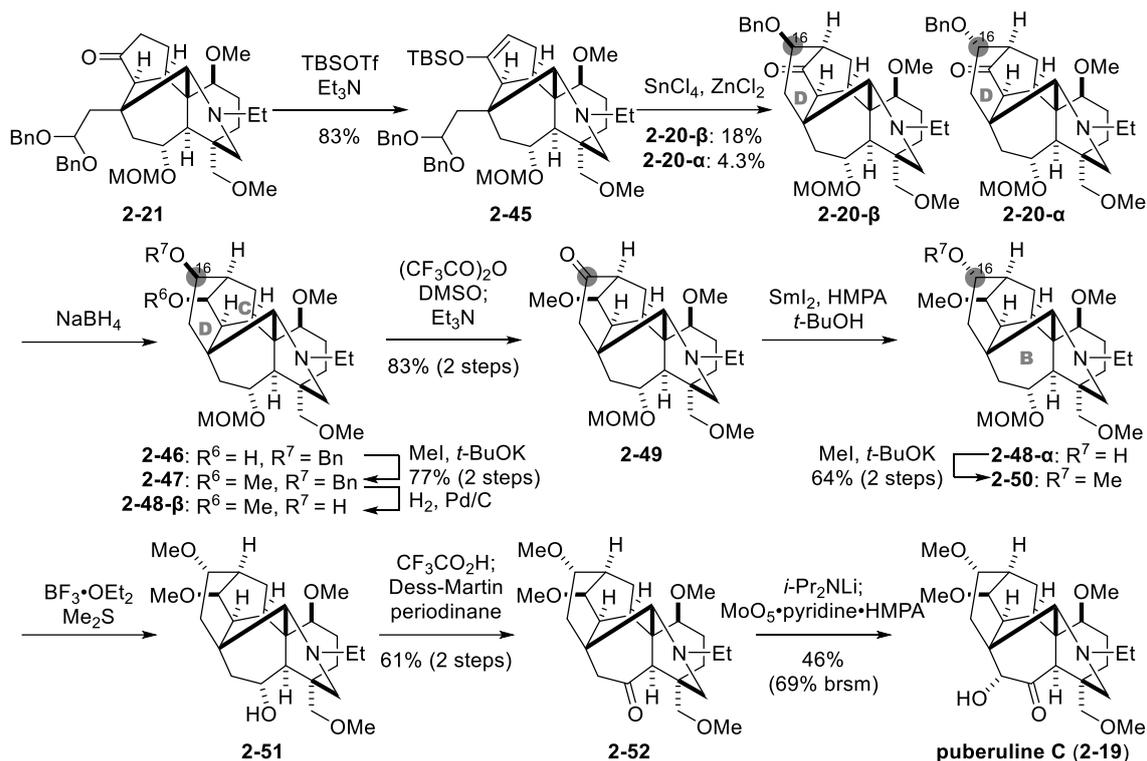
Scheme 2-6. Synthesis of radical reaction substrate **2-22**.

3環性化合物 **2-22** から、連続ラジカル環化反応を用いて5環性化合物 **2-21** を合成した(Scheme 2-7)。この際、化学的に安定な **2-22** の炭素-塩素結合から効率的に橋頭位ラジカル種を発生させるため、電子豊富な(c-Hex)₃SnH を還元剤として用い、マイクロ波照射下 110 °Cにて反応を行った。その結果、所望の連続反応が進行し、5環性化合物 **2-21** を与えた。本反応では、まず、炭素-塩素結合の均等開裂により生じる求核的な C11 位橋頭位ラジカル **2-41** が、最も電子不足な C10 位へ付加し、B 環が形成される。この際、C10, C11 位の連続する立体化学がそれぞれ立体選択的、立体特異的に構築される。生じるラジカル **2-42** は電子不足である一方、窒素原子 α 位の C-H 結合は電子豊富である。そのため、ラジカル **2-42** が電子豊富かつ近傍に位置する C17 位水素原子と反応して[1,5]-水素移動が進行し、求核的な α-アミノラジカル **2-43** を与える。続いて、**2-43** が電子不足な二重結合と C8 位で反応し、F 環が形成される。この過程で、C8, C17 位へ所望の立体化学が導入される。最後に、電子不足なラジカル **2-44** が、スズヒドリドにより分子の下側から水素化されることで C9 位立体化学が構築され、**2-21** を与えたと解釈できる。以上のように、各ラジカル中間体の固有の3次元構造および電子的性質を活用することで、2つの環構造および2つの第四級炭素を含む5つの連続する立体化学を1工程にて構築できた。



Scheme 2-7. Radical cascade reaction.

5環性化合物 **2-21** から、向山アルドール反応による D 環構築と BCD 環の官能基化を行い、**2-19** を全合成した(Scheme 2-8)。まず、**2-21** のケトンを選択的に TBS エノールエーテル化した。Lewis 酸として SnCl₄ と ZnCl₂ を組み合わせた条件に **2-45** を供することで、極めて歪みの大きい D 環の構築を実現し、6環性化合物 **2-20-α** および **2-20-β** を得た。続いて、各異性体から CD 環の位置・立体選択的な官能基変換を行い、**2-50** を導いた。ここでは、**2-20-β** からの変換について述べる。**2-20-β** の C 環ケトンを選択的に還元した後、メチル化を行い、**2-47** を得た。次に、酸化還元条件を用いて C16 位立体化学を反転させた。**2-47** のベンジル基を除去し、Swern 酸化条件を用いてケトン **2-49** へと変換した。一電子還元条件にて **2-49** のケトンを選択的に還元し、得られた **2-48-α** のヒドロキシ基をメチル化することで、CD 環の官能基化を完了した。最後に、B 環のヒドロキシケトン構築した。**2-50** の MOM 基を除去した後、酸性条件下 Dess-Martin 酸化を行い、ケトン **2-52** を得た。続いて、**2-52** のケトン α 位を位置・立体選択的に酸化し、**2-19** の世界初の全合成を達成した。



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

我々は、ラジカル種の反応性を精密に制御した連続ラジカル環化反応および向山アルドール反応を組み合わせた効率的な骨格構築法を用いて、極めて特異な6環性骨格を有する**2-19**の世界初の全合成を達成した。ラジカル反応において、化学的に安定な塩素原子をラジカル発生源とし、電子豊富な第三級アミンを水素原子供与体として活用する戦略は、C19ジテルペンアルカロイドを含む複雑天然物の全合成における強力な方法論となる。

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、主にイオンチャネル形成天然物であるグラミシジンAの細胞内挙動に関する研究を展開した。以下に詳細を述べる。

3-1. グラミシジンAの細胞内挙動解析

細胞質および細胞内小器官のイオン濃度は、恒常的かつ厳密に制御されている。この脂質二重膜を介して保たれるイオン濃度の外的要因による摂動は、生体機能に大きな影響を与える。以上より、イオンチャネル形成分子は、重要な生物活性を示す分子群となりうる。

グラミシジンA (**3-1**, Figure 3-1)は、15残基のD,L-アミノ酸が交互に配列するペプチド系天然物で

あり、脂質二重膜中で内径 4 Å の β^6 -ヘリックスを形成する。このらせん構造が N 末端側で会合し、二量体化することで 1 価カチオン(H^+ , Na^+ , K^+)選択的なチャネルとなる。このイオンチャネル形成は **3-1** が示す多様な生物活性の要因と考えられており、例えば、**3-1** は顕著な抗がん活性を示す。しかし、その細胞内挙動や詳細な分子機構は不明であった。本研究では、**3-1** の構造を基盤とした蛍光類縁体を設計・合成し、詳細な機能を解析した。

まず、**3-1** に特異的な作用を明らかにするために、過去の研究によって我々が見出した第 8 残基 D-スレオニン置換体 **3-2** を、生物活性が大幅に減弱した比較対照化合物として採用した。また、**3-1** および **3-2** の細胞取り込みやオルガネラへの局在を調査するために、疎水的な蛍光官能基である BODIPY を C 末端に有する **3-3** および **3-4** をそれぞれ設計した。

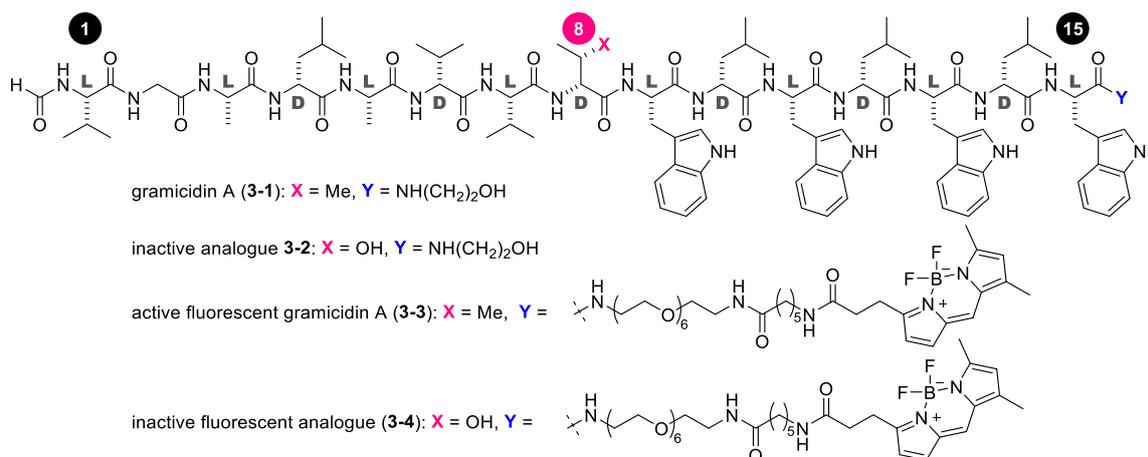
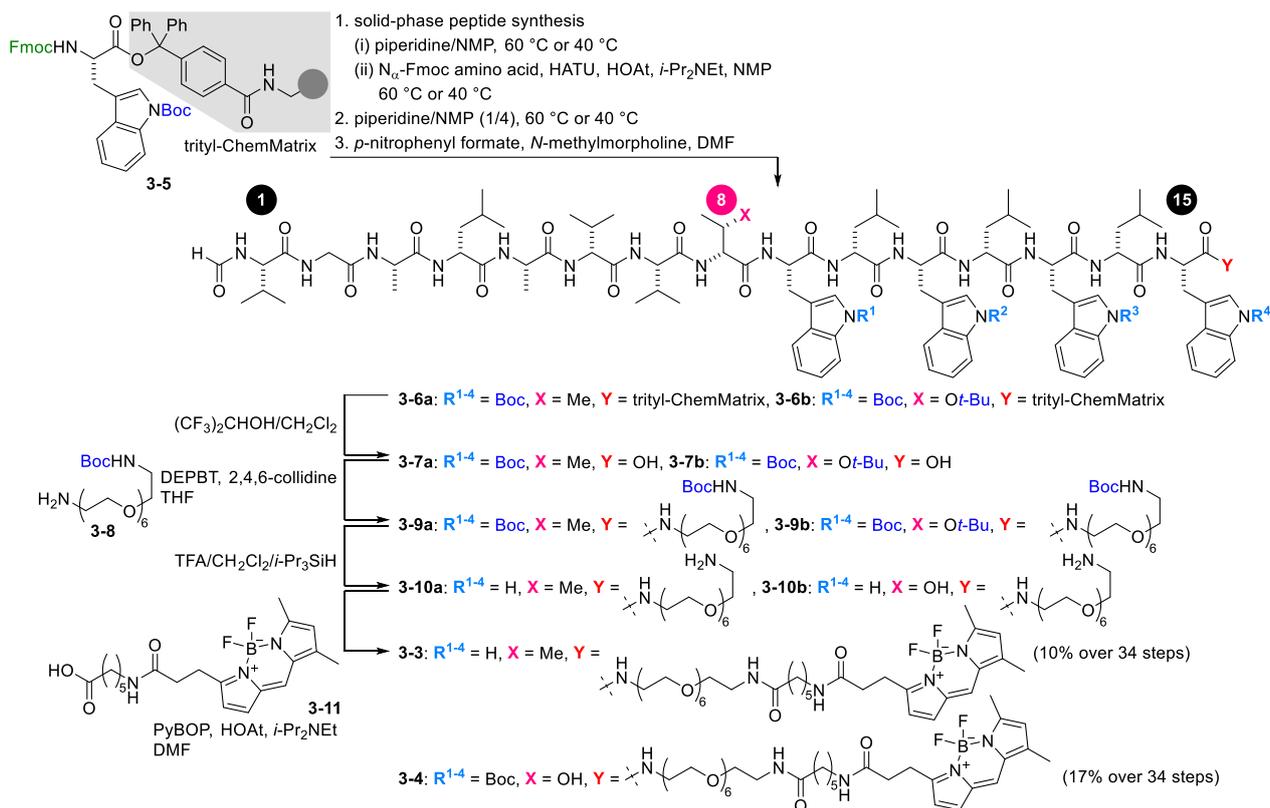


Figure 3-1. Structures of gramicidin A (**3-1**), inactive analogue (**3-2**), active fluorescent gramicidin A (**3-3**), and inactive fluorescent analogue (**3-4**).

3-3 および **3-4** は、固相合成と液相合成を組み合わせることで効率的に調製した(Scheme 3-1)。ここでは、第 15 残基に対応する L-トリプトファン残基が担持された trityl-ChemMatrix 樹脂 **3-5** を出発物質とした。HATU および HOAt を縮合剤として用いた Fmoc 固相合成によって各残基に対応するアミノ酸を連結した後に、N 末端にホルミル基を導入して **3-6a** および **3-6b** とした。続いて、ヘキサフルオロイソプロパノールによる切り出しにより、保護ペプチド **3-7a** および **3-7b** を調製した。その後、DEPBT を用いて C 末端カルボン酸にリンカー **3-8** を縮合して **3-9a** および **3-9b** を合成し、さらにトリフルオロ酢酸によって保護基を除去して **3-10a** および **3-10b** とした。最後に、BODIPY を有するカルボン酸ユニット **3-11** を PyBOP を用いて縮合することで、**3-3** および **3-4** を 34 工程 10% および 17% の収率でそれぞれ合成した。



Scheme 3-1. Synthesis of 3-3 and 3-4.

Table 3-1. Growth inhibition activity of 3-1, 3-2, 3-3, and 3-4.

compounds	GI ₅₀ (nM) ^a
3-1	42 ± 2
3-2	990 ± 130
3-3	170 ± 20
3-4	2800 ± 600

合成した 3-3 および 3-4 のヒト乳がん細胞株 MCF-7 に対する 50%増殖抑制濃度(GI₅₀)を評価したところ、これら2つの分子は、天然物である 3-1 および 3-2 の示す顕著な活性強度差を維持することがわかった(Table 3-1)。以上より、3-3 および 3-4 のふるまいは、天然物である 3-1 および 3-2 の持つ性質を反映することが示唆された。

続いて、各化合物のがん細胞に対する作用を調査した。まず、3-1 と 3-2 を用いて細胞膜脱分極作用を調査したところ、予想通り 3-1 のみが細胞膜を速やかに脱分極することがわかった。一方で、細胞内局在をプローブ 3-3 および 3-4 とオルガネラ選択的蛍光色素を用いて調査したところ、3-3 が主にミトコンドリアへ局在することが明らかになった(Figure 3-2a)。したがって、このミトコンドリアへの局在が、3-1 の細胞増殖抑制活性に重要な役割を果たすことが示唆された。さらに詳細に調査したところ、3-1 はプロトンチャネル形成に起因するミトコンドリア内膜への脱分極作用を持つことが強く示唆された。また、細胞の自食作用を介したミトコンドリア選択的分解機構であるマイトファジーを誘起していることが示唆された。

ミトコンドリア内膜を隔てて存在するプロトン濃度勾配は、F₀F₁-ATP 合成酵素が触媒する ATP 合成の駆動力となる。そこで、3-1 のもたらすミトコンドリアの ATP 生産に対する摂動を透過処理を

施した MCF-7 細胞を用いて調査した。その結果、対照化合物として用いたオリゴマイシン A と同様に、**3-1** が濃度依存的にミトコンドリアによる ATP 合成を阻害することが明らかになった(Figure 3-2b)。以上より、**3-1** は細胞内 ATP 濃度の低下によって細胞周期を停止させ、顕著ながん細胞増殖抑制活性を示すことが示唆された。

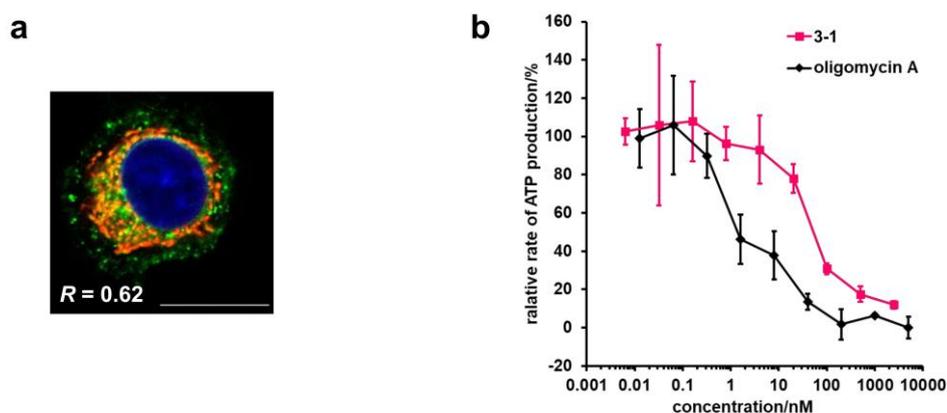


Figure 3-2. (a) Colocalization of **3-3** (50 nM) and MitoTracker Red CMXRos. R value represents Pearson's correlation coefficient calculated from the fluorescence of **3-3** and MitoTracker. (b) Inhibition of ATP production by **3-1** and oligomycin A using membrane-permeabilized MCF-7 cells.

学 術 論 文

- 1) T. Shimakawa, S. Nakamura, H. Asai, K. Hagiwara, M. Inoue, "Total Synthesis of Puberuline C," *J. Am. Chem. Soc.* **2023**, *145*, 600–609.
- 2) N. Nakajima, E. Yoshida, T. Toma, Y. Nishiyama, M. Inoue, T. Fukuyama, S. Yokoshima, "Formal Synthesis of Ecteinascidin 743 via Intramolecular Cascade Heck Reaction to Construct the Diazabicyclo[3.3.1]nonane Framework," *Org. Lett.* **2022**, *24*, 8228–8232.
- 3) Y.-W. Xue, H. Itoh, S. Dan, M. Inoue, "Gramicidin A Accumulates in Mitochondria, Reduces ATP Levels, Induces Mitophagy, and Inhibits Cancer Cell Growth," *Chem. Sci.* **2022**, *13*, 7482–7491.
- 4) T. Nagai, Y. Wang, K. Hagiwara, M. Inoue, "Asymmetric Synthesis of Evoninic Acid," *Tetrahedron Lett.* **2022**, *97*, Article number: 153747.
- 5) Y. Hikone, T. Kato, M. Nagatomo, M. Inoue, "Total Synthesis of Resiniferatoxin Enabled by Photocatalytic Decarboxylative Radical Cyclization," *Org. Lett.* **2022**, *24*, 929–933.
- 6) D. Kuwana, Y. Komori, M. Nagatomo, M. Inoue, "Photoinduced Decarboxylative Radical Coupling Reaction of Multiply Oxygenated Structures by Catalysis of Pt-Doped TiO₂," *J. Org. Chem.* **2022**, *87*, 730–736.

総 説・著 書

- 7) H. Itoh, "Total Synthesis and Functional Analysis of Complex Peptidic Natural Products and Their Artificial Analogues," *YAKUGAKU ZASSHI* **2022**, *142*, 561–571.

受賞

- 1) 井上将行, “巨大複雑天然物の全合成と構造類縁体の網羅的創出,” 第 64 回有機合成化学協会賞 (学術的)
- 2) 伊藤寛晃, “Solid-Phase Total Synthesis and Functional Analysis of Yaku'amide B and Its Analogues,” Asian Core Program / Advanced Research Network Lectureship Award (China) 2022
- 3) 永井利也 (博士課程 4 年), “(-)-オイオニミンの全合成,” 日本薬学会 第 142 年会 学生優秀発表賞
- 4) 神谷光一 (博士課程 3 年), “合成プローブを利用したヤクアミド B の生物活性発現機構解析,” 日本薬学会 第 142 年会 学生優秀発表賞
- 5) 両角久寛 (修士課程 1 年), “バトラコトキシン四環性骨格の効率的合成法の開発,” 第 66 回日本薬学会関東支部大会 優秀発表賞

招待講演

- 1) 井上将行, “ジヒドロ- β -アガロフラン類の全合成,” 第 36 回農薬デザイン研究会, オンライン, 2022 年 11 月 11 日
- 2) 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, オンライン, 2022 年 11 月 7 日
- 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), 2022 年 7 月 15 日
- 4) M. Inoue, “Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products,” Frontiers in Synthetic and Medicinal Chemistry Virtual Lecture Series, PHARMARON, Online, November 24, 2022.
- 5) M. Inoue, “Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products,” 28th International Society of Heterocyclic Chemistry Congress, University of California, Santa Barbara, Goleta, CA, USA, August 30, 2022 (Plenary Lecturer).
- 6) M. Inoue, “Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products,” The 3rd International Symposium on Hybrid Catalysis for Enabling Molecular Synthesis on Demand, Online, July 1, 2022.
- 7) M. Inoue, “Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products,” 2022 National Organic Symposium, San Diego, CA, USA, June 28, 2022 (Plenary Lecturer).
- 8) 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, June 16, 2022.