

◆ 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)

准教授 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：東京大学大学院薬学系研究科 助教、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や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 3 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 3 次元構造を操ることができ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 3 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である。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、光照射かつ Et_3Al 存在下進行するラジカル-極性交差型 2 成分および 3 成分反応を開発した。以下にその詳細を示す。

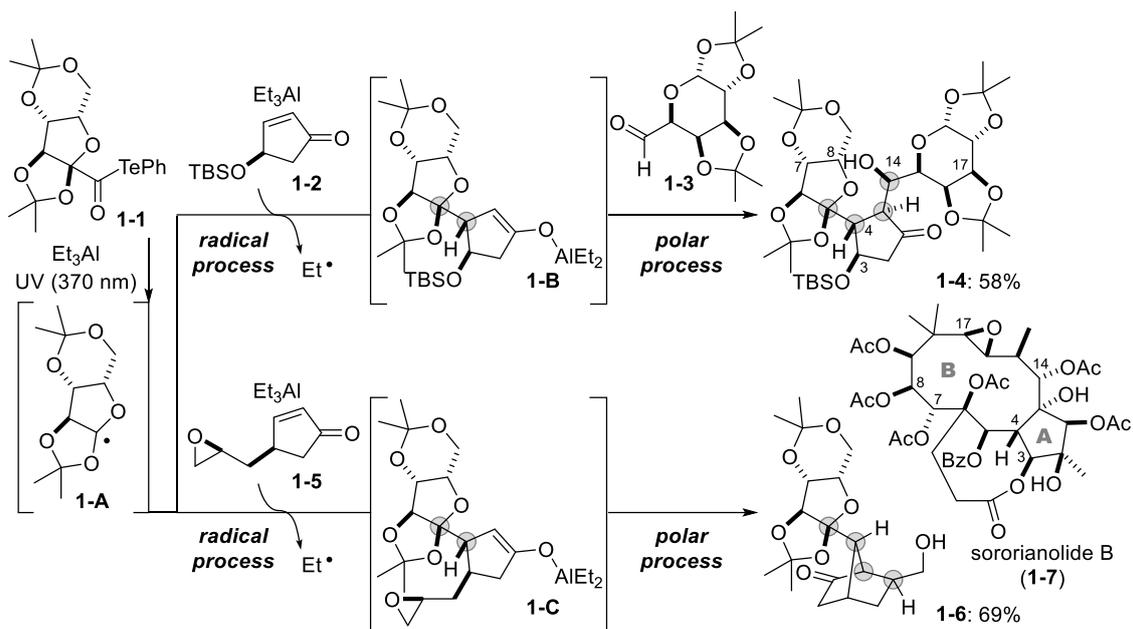
1-1. 光照射かつ Et_3Al 存在下進行する、ラジカル-極性交差型反応の開発

これまでに我々は、 Et_3B および酸素をラジカル開始剤、 α -アルコキシアシルテルリドをラジカル供与体とする分子間ラジカル反応を多数開発してきた。さらに、開発した方法論を様々な複雑天然物の効率的な全合成へと適用することで、その高い有用性を実証してきた。我々は、従来の Et_3B /酸素系では困難な反応の実現のため、 Et_3B に比してより Lewis 酸性の高い Et_3Al を用いる新規ラジカル反応を開拓した。その結果、 α -アルコキシアシルテルリドを基質とし、光照射かつ Et_3Al 存在下進行するラジカル-極性交差反応の開発に成功した。

まず、糖由来の α -アルコキシアシルテルリド **1-1** に波長 370 nm の紫外光を照射すると、 α -アルコキシ炭素ラジカル **1-A** を発生させられることを見出した(Scheme 1-1)。そこで光照射かつ Et_3Al 存在下、**1-1** をエノン **1-2** および別の糖由来のアルデヒド **1-3** と反応させたところ、3 成分連結体 **1-4** が 58%の収率で単一の生成物として得られた。本反応では求核性を示す **1-A** が **1-2** の電子不足オレフィンにラジカル付加し、エチルラジカルの放出を伴いながらアルミニウムエノラート **1-B** となる。続いて **1-B** と **1-3** の間でアルドール反応(極性反応)が進行することで、**1-4** が生成すると推定される。

続いて、我々はアルミニウムエノラートの示す高い反応性に着目し、本反応をより求電子性の低いエポキシドへと適用した。すなわち **1-1** と分子内にエポキシドを有するエノン **1-5** の組み合わせに対して確立した反応条件を適用することで、中間体 **1-C** を介してラジカル-極性交差反応成績体 **1-6** を 69%の単離収率で得た。一方、以前に報告した Et_3B ・酸素条件(*Chem. Sci.* **2015**, *6*, 2765–2769)にて **1-1** と **1-5** を処理しても **1-6** は得られず、 Et_3Al を用いる今回新たに確立した反応条件の有用性を実証できた。

いずれの反応も、基質の有する多数の酸素官能基を損なうことなく、立体的に混み入った 2 本の $\text{C}(\text{sp}^3)\text{-C}(\text{sp}^3)$ 結合を完全な立体選択性で形成することで、1 工程で分子を一挙に複雑化できた。特に、**1-1**, **1-2**, および **1-3** の 3 成分連結反応では、13 連続不斉中心を有する成績体 **1-4** を構築した。**1-4** は、複雑天然物ソロリアノリド **B (1-7)** の C3, C4, C7, C8, C14, C17 の 6 つの不斉点を有する化合物である。以上の結果は、今回新たに開発したラジカル-極性交差型反応の、高酸化度天然物の収束的全合成へ向けた応用可能性を示すものである。



Scheme 1-1. Et₃Al/light-promoted radical-polar crossover reactions of α -alkoxyacyl telluride **1-1**.

2. 生物活性天然物の全合成研究

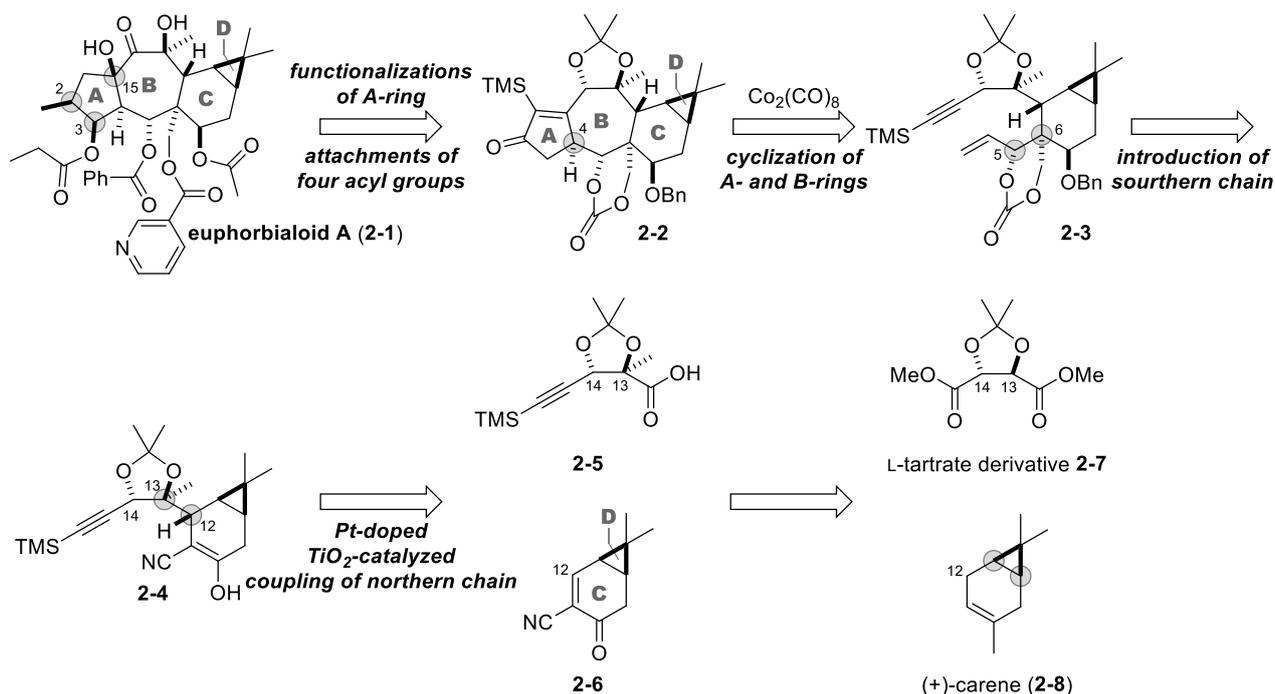
我々は高度に酸化された炭素環を持つテルペノイド、ステロイドおよびポリケチドを標的とし、全合成効率化を目的とした研究を遂行している。全合成研究における課題設定は、環状構造に様々な置換基を持つ化合物群に対する統一的な短工程合成法の開発である。本年は、抗炎症活性を示すユーフォルビアロイド **A** (**2-1**) の全合成を達成した。また、強力な抗 HIV 活性を有するチグリアンジテルペン類の網羅的全合成を実現した。以下にその詳細を示す。

2-1. ユーフォルビアロイド **A** の全合成

ユーフォルビアロイド **A** (**2-1**) は、抗炎症作用を示すプレミルシナンジテルペノイドである。**2-1** は 5/7/6/3 員環が高度に縮環した 4 環性炭素骨格 (ABCD 環) 上に、3 個の 4 置換炭素を含む 11 連続不斉中心と 7 個の酸素官能基を有する。4 環性炭素骨格の一方の側に集中した 4 個のヒドロキシ基は、それぞれ異なるアシル基によって修飾されている。この複雑な化学構造のため **2-1** の全合成は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、**2-1** の世界初の全合成を達成した。

2-1 の合成計画を Scheme 2-1 に示す。我々は A 環の立体選択的な官能基化と 4 種のアシル基の位置選択的な導入を合成終盤で行うこととした。そこで鍵中間体として、BC 環部の酸素官能基が反応性の異なる保護基によって区別された ABCD 4 環性化合物 **2-2** を設計した。**2-2** の 5/7 員環 (AB 環) は、エンイン **2-3** に対する Pauson-Khand 反応により一挙に構築する。**2-3** の C6 位第 4 級炭素は、**2-4** のエノール構造を活用した立体選択的なアリル基導入によって構築する。**2-4** は、アセトニド保護された 1,2-ジオール **2-5** と CD 環エノン **2-6** を連結することで効率的に合成する。この際、高い官能基許容性と反応性を示す Pt 含有 TiO₂ 触媒を用いるラジカルカップリング反応を利用することとした。**2-5** および **2-6** は、キラル原料である L-酒石酸誘導体 **2-7** および (+)-カレン (**2-8**) よりそれぞれ

合成できる。



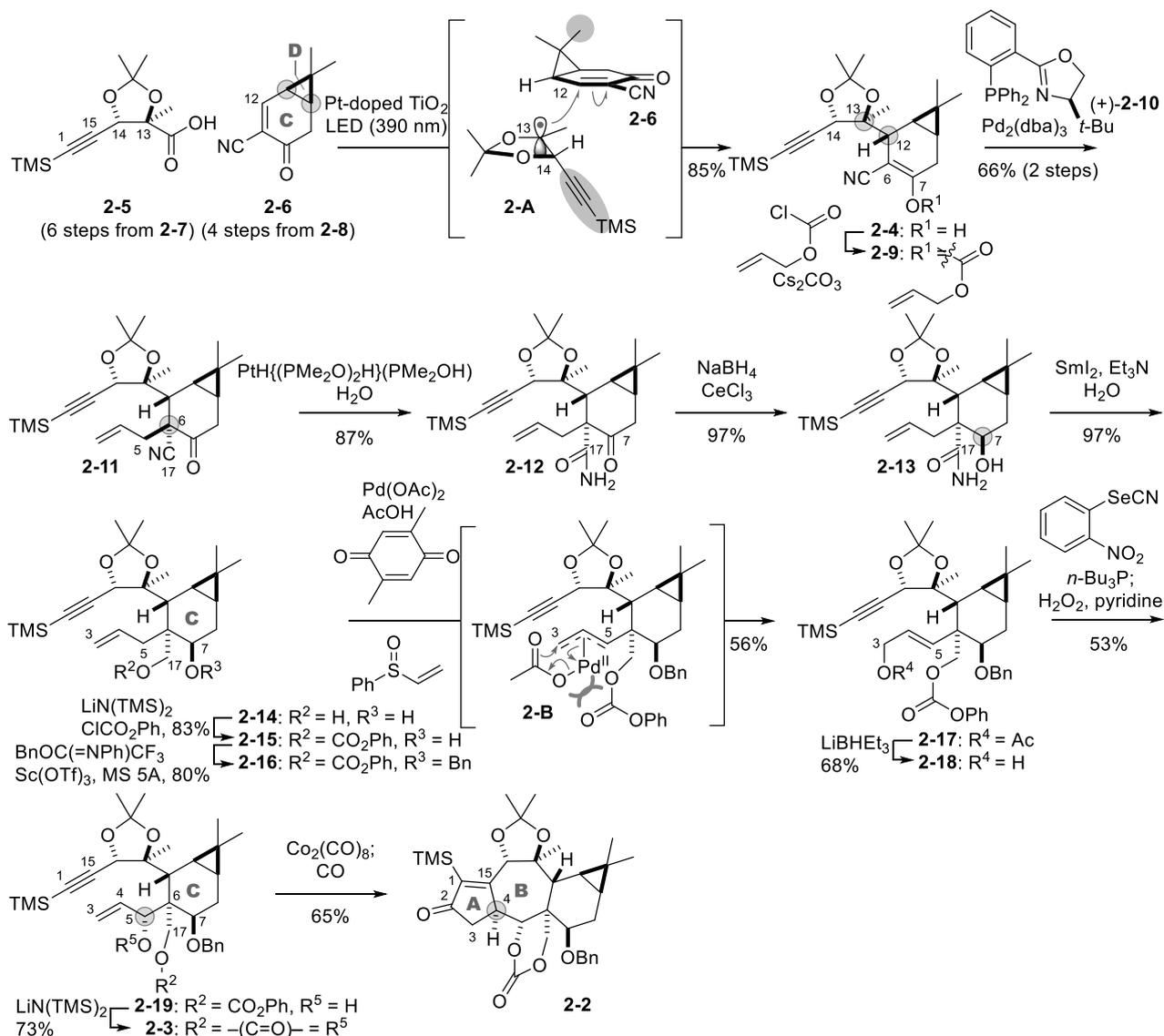
Scheme 2-1. Synthetic plan of euphorbialoid A (2-1).

実際に確立した全合成経路を Scheme 2-2 および Scheme 2-3 に示す。まず、**2-7** もしくは **2-8** からそれぞれ 4-6 工程の変換によりカルボン酸 **2-5** およびエノン **2-6** を合成した(Scheme 2-2)。続いて、**2-5** と **2-6** をラジカルカップリング反応により連結した。**2-5**、**2-6** および Pt 含有 TiO_2 触媒の混合物に対して波長 390 nm の光を照射したところ、所望の C12, C13 位の立体化学を有する付加体 **2-4** が 85% の収率で得られた。推定される反応機構と立体選択性発現機構を述べる。まず光照射により TiO_2 が電子励起され、正孔が生じる。**2-5** は、脱プロトン化ののち正孔による 1 電子酸化を受け、脱炭酸を経て α -アルコキシ炭素ラジカル **2-A** となる。求核的な性質を示す **2-A** は電子豊富なアルキン存在下、ケトンとニトリルの 2 つの電子求引基により求電子性が向上した **2-6** のオレフィンに化学選択的に付加する。この際、アセトニドにより配座が固定されたラジカルが、嵩高いアルキン部位の反対側から D 環を避けるようオレフィンに接近することで、新たに生じる 2 つの立体化学が制御される。最後に、生じたラジカルが 1 電子還元とプロトン化を経て **2-4** となる。

次に C 環官能基化を完了した。はじめに、C6 位第 4 級炭素を構築するため、エノール **2-4** をアリルカルボナート化し **2-9** へと導いた。続いて **2-9** に対して $\text{Pd}_2(\text{dba})_3$ と不斉配位子(+)-**2-10** を作用させた。その結果、脱炭酸を伴うアリル基転位を経て、**2-11** の C6 位第 4 級炭素が所望の立体選択性で構築できた。次に、3 工程の変換により、ケトンとニトリルをヒドロキシ基へと還元した。まず、Pt 触媒存在下 **2-11** のニトリルを **2-12** のアミドへと水和した。**2-12** に対して CeCl_3 存在下 NaBH_4 を作用させることでケトン立体選択的に還元し、アルコール **2-13** を得た。本立体選択性は、嵩高い D 環を避けるよう還元剤がケトンに接近することで発現したと考えられる。さらに、 SmI_2 によってアミドを還元することで、ジオール **2-14** へと導いた。続いて、後の位置選択的なアシル基導入を見据え、**2-14** の 2 つのヒドロキシ基を異なる保護基によって区別した。まず、より立体的に空いた C17 位第 1 級ヒドロキシ基を位置選択的にフェニルカルボナート基で保護した。得られた **2-15** の残る

C7位第2級ヒドロキシ基をベンジル化することで、C環上の全ての酸素官能基を有する **2-16** へと導いた。

続いて、C5位への酸素官能基導入とAB環構築を実現した。**2-16** に対して、Whiteにより開発されたアリル位酸化条件を適用したところ、所望のC5位ではなくC3位にアセトキシ基が導入された **2-17** のみが得られた。反応中間体 **2-B** において、アセトキシ基がネオペンチル位であるC5位よりも立体的に空いたC3位に優先的に求核攻撃したと考えた。そこで、**2-17** のC3位アセトキシ基を足掛かりとする転位反応によりC5位酸素官能基化を行った。まず、塩基性条件に脆弱なフェニルカルボナート存在下、還元条件によってアセチル基を化学選択的に除去し、アリルアルコール **2-18** を得た。次に、**2-18** の第1級アルコールを、セレン試薬とホスフィンを作用させることで、セレニドへと変換した。その後ワンポットで H_2O_2 を添加することで、セレノキシドへの酸化と続く[2,3]-シグマトロピー転位を進行させ、C5位に所望の立体化学を有するアルコール **2-19** を主生成物として得た。さらに、**2-19** を塩基で処理することで、フェニルカルボナート保護基を1工程で環状カルボナートへと変換した。最後に、得られたエンイン **2-3** に対して $\text{Co}_2(\text{CO})_8$ を作用させることで、AB環部を一挙に構築した。この際、所望のC4位立体化学を有する **2-2** を完全な選択性で合成できた。

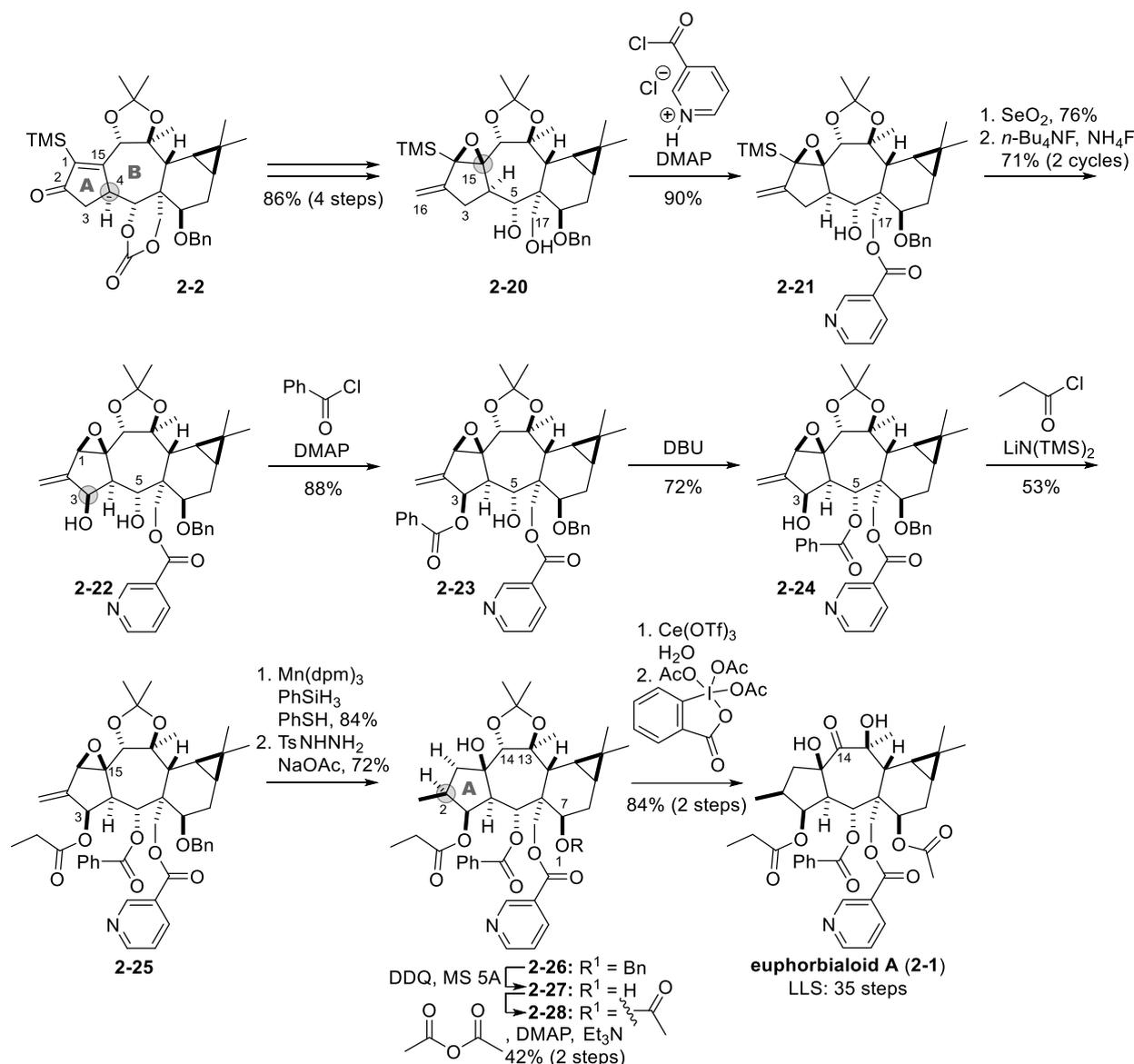


Scheme 2-2. Construction of the ABCD-ring skeleton.

2-1 の 4 環性炭素骨格を構築できたため、**2-2** のエノン構造を活用した A 環官能基化に着手した (Scheme 2-3)。まず、4 工程の変換により C16 炭素および C15 位酸素原子の導入と環状カルボナートの除去を行い、ジオール **2-20** とした。次いで **2-20** の 2 つのヒドロキシ基のうち、立体的により空いた C17 位第 1 級ヒドロキシ基を選択的にニコチノイル化した。得た **2-21** を SeO₂ で処理することで、アリル位である C3 位に所望の立体選択性で酸素官能基を導入した。最後に弱酸性の NH₄F 添加条件下 *n*-Bu₄NF を作用させることで、塩基性条件に脆弱なニコチノイル基を損なうことなく TMS 基を除去した。

C3,C5-ジオール **2-22** の反応性に乏しい分子中央部に位置する C5 位ヒドロキシ基をベンゾイル化するために、転位を活用した新たなアシル化戦略を確立した。すなわち、ベンゾイル基を分子外側に露出した C3 位ヒドロキシ基に一旦導入したのち、DBU 存在下近接した C5 位ヒドロキシ基へ転位させた。得られた **2-24** の空いた C3 位ヒドロキシ基をプロピオニル化することで、**2-25** へと導いた。最後に、水素添加条件に脆弱なニコチノイル基を損なうことなく、ビニルエポキシドの還元と C7O-ベンジル基のアセチル基への置換を行う条件を見出すことで、**2-1** を全合成した。まず、**2-25** のビニルエポキシド部位を、マンガンヒドリド種が介在するラジカル条件により還元的に開裂させたのち、ジイミド還元条件に付すことで、天然物に対応する **2-26** の A 環構造へと導いた。続いて、得られた **2-26** に対して MS 5A 存在下 DDQ を作用させることで、ベンジル基を酸化的に除去した。さらに、C7 位ヒドロキシ基をアセチル化することで、4 種のアシル基導入を完了した。最後に、アセトニドの除去と C14 位ヒドロキシ基の酸化によって、ユーフォルビアロイド A (**2-1**) の世界初の全合成を総 35 工程で達成した。

保護基や置換基を戦略的に配置した分子の 3 次元構造を活用し、反応の条件と順序を制御することで、世界初の **2-1** の全合成が可能となった。本研究で得られた知見は、従来合成が困難であった複雑にアシル化された様々な高酸化度ジテルペノイドの全合成へと展開可能である。



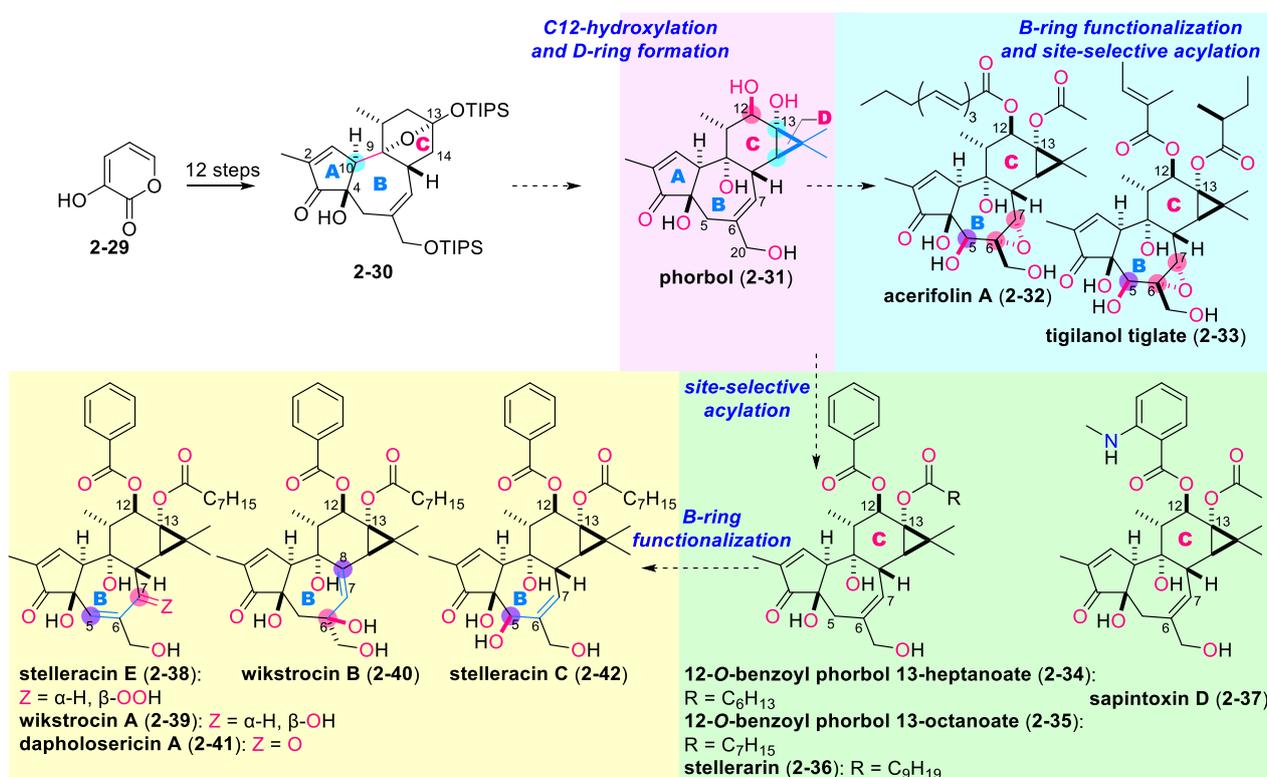
Scheme 2-3. Total synthesis of euphorbialoid A (2-1).

2-2. チグリアンジテルペン類の全合成と HIV 潜伏感染細胞の再活性化能の評価

チグリアンジテルペンはトウダイグサ科およびジンチョウゲ科の植物から単離される天然物である。この天然物群に属する化合物は、高度に縮環した 5/7/6/3 員環(ABCD 環)からなる複雑な炭素骨格上に多数の酸素官能基を有する。化合物ごとに B 環の酸化様式および C 環のアシル化様式が異なり、これがチグリアンジテルペン類に多様な生物活性をもたらす。特に、ヒト免疫不全ウイルス(HIV)潜伏感染細胞の再活性化能は、今なお世界規模で蔓延している HIV 感染症の根治に向けた新規治療戦略の根幹をなすものとして注目を集めている。今日実用化されている抗 HIV 薬は高い抗ウイルス活性を示すが、潜伏期 HIV を排除できないため、HIV 感染者は生涯にわたって薬剤を服用する必要がある。したがって、HIV 潜伏感染細胞を再活性化剤で活性化させたのち排除する「Shock and kill」アプローチは、HIV を体内から完全に排除できる可能性を持っている。また、複雑な 3 次元構造を

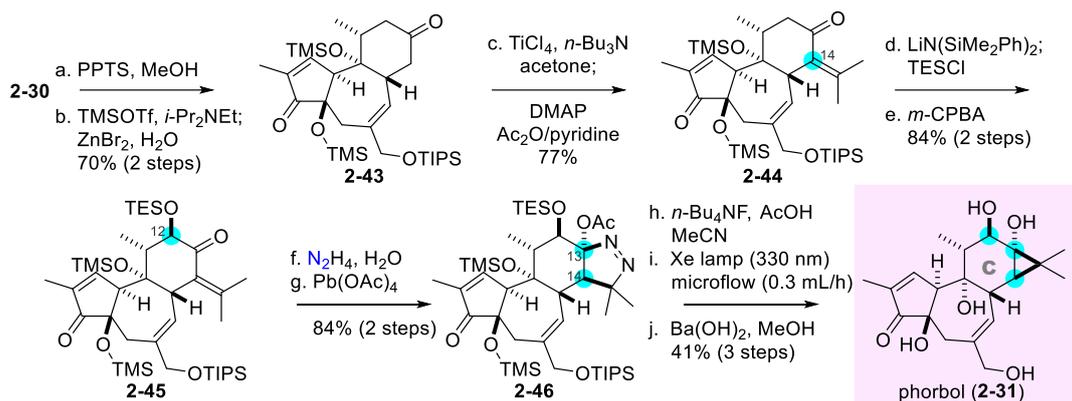
有するチグリアンジテルペン類を有機合成化学によって網羅的に合成することは、有機合成化学上、極めて挑戦的な課題であるとともに、天然物を基盤とした未踏創薬領域の開拓に大きく貢献する。本研究では、ホルボールおよび 11 種類のチグリアンジテルペンの世界初の全合成を達成した。また、合成した天然物の HIV 潜伏感染細胞の再活性化能を評価した。

Scheme 2-4 に合成計画を示す。我々が報告した **2-29** から合成できる既知の **2-30** に対し、C12 位のヒドロキシ基導入と D 環の構築により、ホルボール(**2-31**)へ導く。続いて全合成したホルボールから、ホルボール基本骨格上のアシル化様式および酸化様式の違いにより 3 つに分類したチグリアンジテルペンを網羅的に合成法する。青でハイライトしたように、B 環の官能基化と位置選択的なアシル化を経て、2 つの天然物へ導く。また、**2-31** の C12, C13 位ヒドロキシ基への位置選択的なアシル基導入により、緑色でハイライトした 4 つの天然物を合成する。最後に、アシル化した **2-35** の B 環を官能基化することで、黄色でハイライトした 5 つのチグリアンジテルペンを得る。



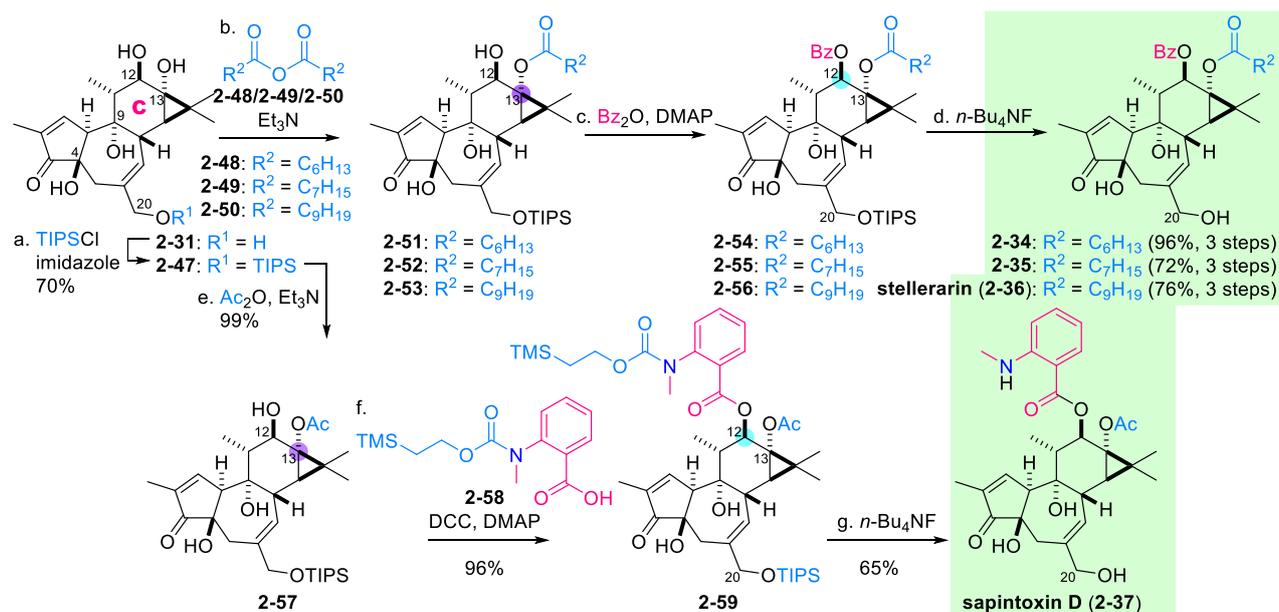
Scheme 2-4. Synthetic plan of phorbol (**2-31**) and 11 tigliane diterpenoids.

まず、**2-30** の C 環部に対する、位置・立体選択的な官能基導入によりホルボール(**2-31**)の全合成を達成した(Scheme 2-5)。**2-30** から 2 工程の変換を経てケトン **2-43** としたのち、続くアセトンの位置選択的なアルドール縮合を TiCl₄/n-Bu₃N 条件下実現し、エノン **2-44** を合成した。**2-44** に塩基を作用させ、生じたエノラートを TES 基で捕捉したのち、*m*-CPBA 酸化で C12 位に位置・立体選択的に酸素官能基を導入した。続いて、 α,β -不飽和ケトン **2-45** にヒドラジンを作用させ、C13 位ヒドラゾン形成と窒素原子の分子内 1,4-付加による 5 員環形成を行った。生じたヒドラゾン環を Pb(OAc)₄ で酸化し、ピラゾリン **2-46** を得た。最後に、紫外光照射による光脱窒素化反応を伴うシクロプロパン形成とアセチル基の除去を行い、**2-31** の不斉全合成を総 22 工程で達成した。



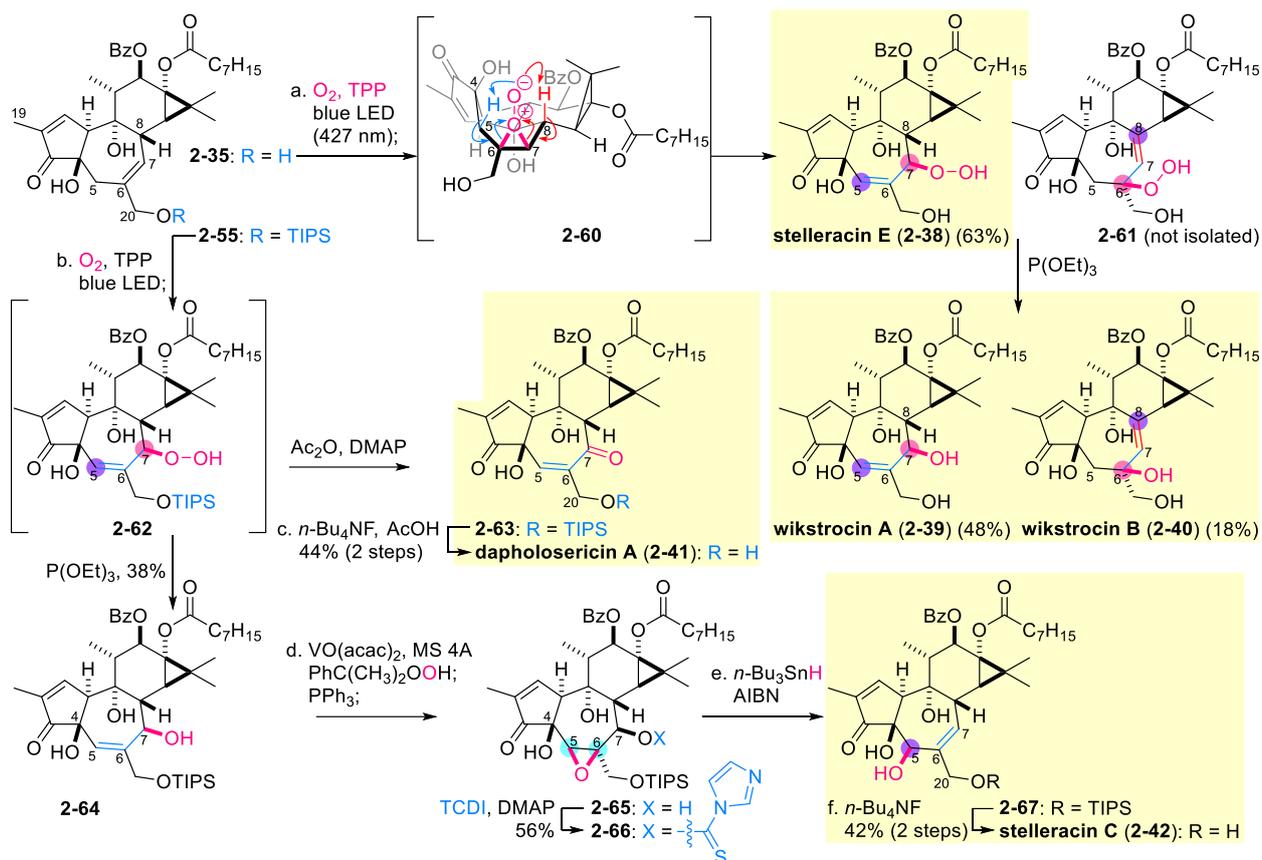
Scheme 2-5. Total synthesis of phorbol.

続いて、得られた **2-31** の C12, C13 位ヒドロキシ基への位置選択的なアシル基導入により、4つの天然物 **2-34–2-37** を全合成した(Scheme 2-6)。 **2-31** の第 1 級ヒドロキシ基を TIPS 基で保護し、 **2-47** とした。 **2-47** のアシル化では C13 位の第 3 級ヒドロキシ基、 C12 位の第 2 級ヒドロキシ基の順番で反応することがわかったため、適切なアシル化剤を順に作用させることで、4つの天然物へ導いた。



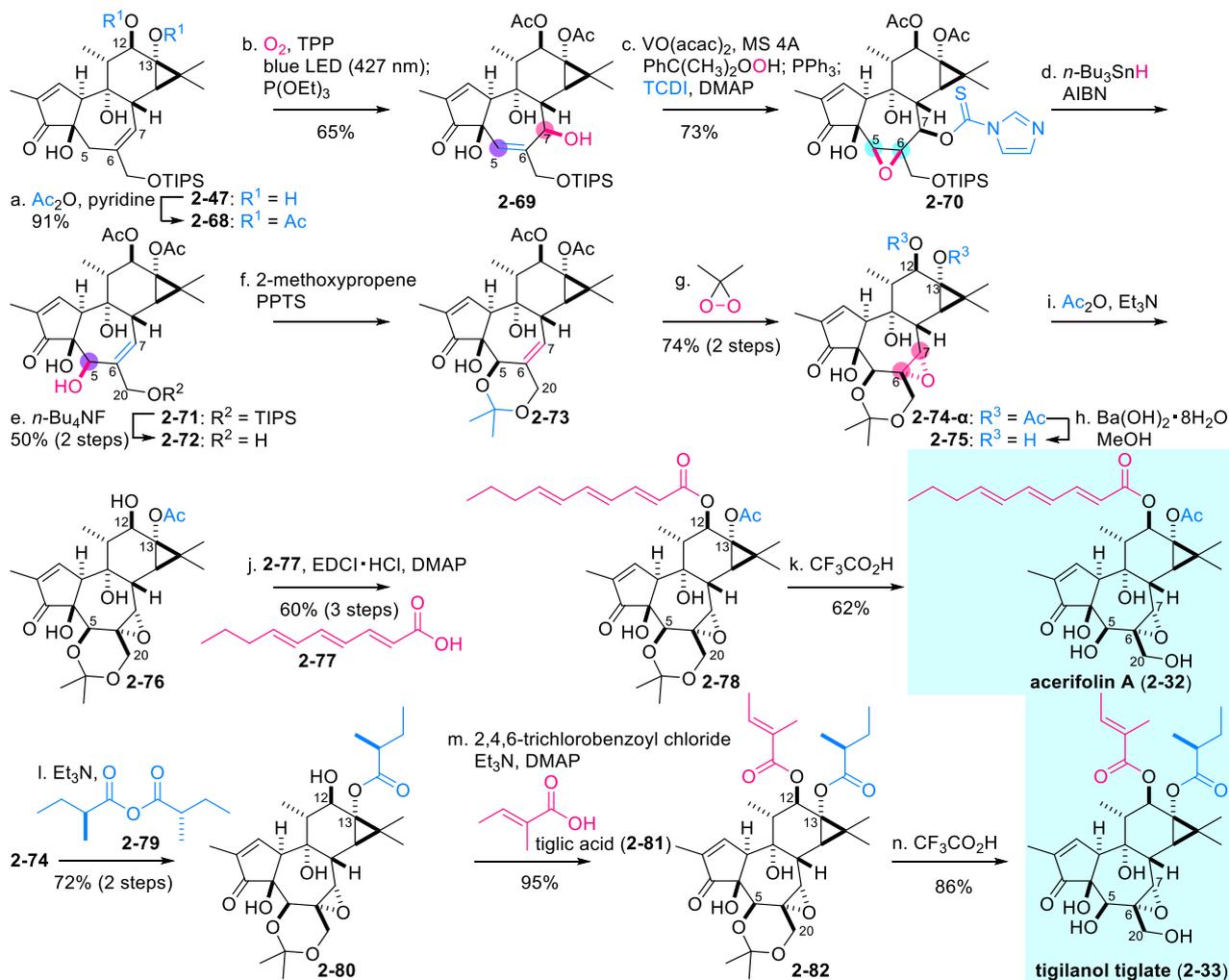
Scheme 2-6. Total syntheses of 12-*O*-benzoyl phorbol 13-heptanoate (**2-34**), 12-*O*-benzoyl phorbol 13-octanoate (**2-35**), stellerarin (**2-36**), and sapintoxin D (**2-37**).

次に、アシル基を導入した **2-35** の B 環の官能基化により **2-38–2-42** の 5つの天然物を全合成した(Scheme 2-7)。 **2-35** に酸素と光増感剤存在下、青色光を照射することでペルオキシ基を導入し、 **2-38** と **2-61** へ導いた。これらに還元剤を加えることで、ペルオキシ基をヒドロキシ基に変換し、 **2-39** および **2-40** を全合成した。続いて、 **2-35** の第 1 級ヒドロキシ基を TIPS 基で保護した後、同様の光励起により生じる一重項酸素を用いた酸化条件に付すことで、ペルオキシド **2-62** を得た。このヒドロキシ基の脱離によるケトンへの変換を経て、 **2-41** を全合成した。また、 **2-62** の還元で得られたアリルアルコール **2-64** を 3 工程の変換で転位させ、 **2-42** へ導いた。



Scheme 2-7. Total syntheses of stelleracin E (**2-38**), wikstrocin A (**2-39**) and B (**2-40**), daphlosericin A (**2-41**), and stelleracin C (**2-42**).

最後に、B環のC5位 β 配向のヒドロキシ基およびC6,C7位 α 配向のエポキシドを有する**2-32**および**2-33**を全合成した(Scheme 2-8)。C5位ヒドロキシ基はScheme 2-7と同様の光励起により生じる一重項酸素を用いた酸化を経て実現した。また、C6,7位エポキシドの立体選択的導入は、C5,C20位アルコールをアセトニド基で保護することで立体障害を3次的に調整し、DMDOを作用させることで達成した。最後に、位置選択的なアシル基の導入により、**2-32**および**2-33**を全合成した。



Scheme 2-8. Total syntheses of acerifolin A (**2-32**) and tigilanol tiglate (**2-33**).

得られた 12 種類のチグリアンジテルペンを HIV 潜伏感染細胞再活性化試験に供した。その結果、HIV 再活性化天然物として知られるプロストラチンよりも高い活性を有する 7 種類のチグリアンジテルペンを見出した。そのうちの 5 種類は、プロストラチンよりも 200 から 300 倍の強力な再活性化能を有することを初めて明らかにした。

本研究では、官能基直交性の優れた反応剤と基質の 3 次元構造の精密な制御の組み合わせにより、アシル化様式および酸化様式の異なる計 12 種類のチグリアンジテルペンの全合成を達成した。本研究で確立した全合成法は、チグリアンジテルペンを基盤とした多種多様な誘導体の合成を可能とし、HIV 感染症の根治戦略の一つである「Shock and kill」アプローチを強力に推進することが期待される。

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、主に抗がん活性ペプチド系天然物であるエフラペプチン C の機能向上に関する研究を展開した。以下に詳細を述べる。

3-1. 抗がん活性ペプチド系天然物エフラペプチン C の生物活性向上

エフラペプチン C (**3-1a**, Figure 1)は、子囊菌 *Tolyocladium inflatum* が生産するペプチド系天然物であり、強力ながん細胞増殖阻害活性を示すことが報告されている。**3-1a** の顕著な生物活性は、ミトコンドリアに存在する F₀F₁-ATP 合成酵素に対する結合によって ATP 合成を阻害することに起因する。**3-1a** と F₀F₁-ATP 合成酵素の複合体において、**3-1a** の N 末端および C 末端部位は 3₁₀-ヘリックスを形成して標的と相互作用する。その一方で、分子の中央に位置する第 7 および第 8 残基の β-Ala-7-Gly-8 は 2 つのヘリックス部位を繋ぐ柔軟なリンカーとしてふるまう。本研究では、分子量が 1600 を超える **3-1a** に対して最小の炭化水素基であるメチル基をリンカー領域に 1 個導入することで **3-1a** の生物活性を向上することを狙った。

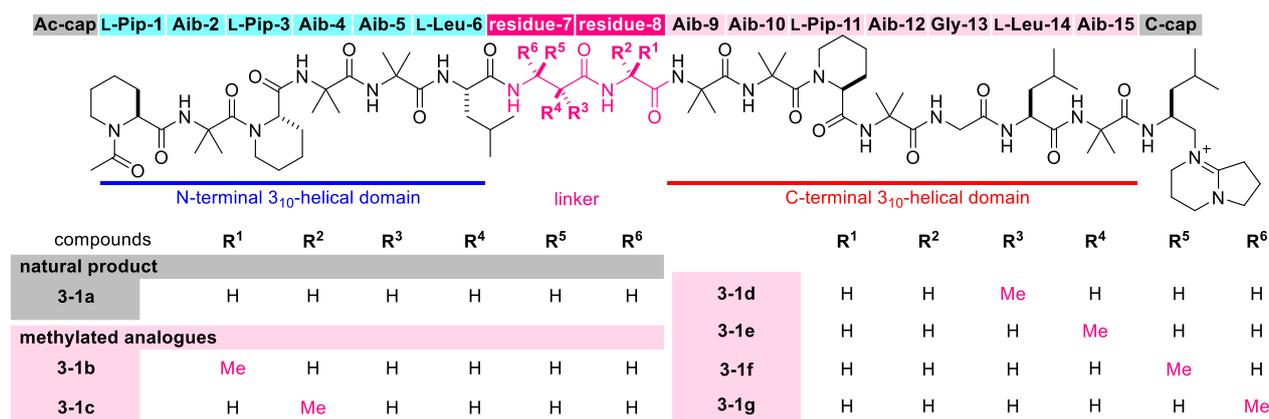


Figure 1. Structures of efrageptin C (**3-1a**) and its methylated analogues **3-1b–3-1g**.

まず、メチル化によるリンカー部位の配座への影響を評価するために、**3-1a** およびメチル基の導入位置と立体配置が異なる 6 種類の類縁体 **3-1b–3-1g** (Figure 1) を分子動力学シミュレーションに付し、Figure 2 において示す原子 A–D で規定される長さ r と二面角 θ を解析した。その結果、いずれのメチル化類縁体でも **3-1a** に比して配座分布が狭まることがわかった。**3-1f** とそのエピマーである **3-1g** の θ 値は、**3-1a** や **3-1b–3-1e** の θ 値よりも偏在しており、R⁵ もしくは R⁶ に導入したメチル基がリンカーの配座を強く固定する効果をもつことが予想された。また、 r 値の大小関係から、**3-1b–3-1f** のリンカーは **3-1g** に比して折れ曲がった配座をとることが示唆された。さらに、**3-1a–3-1f** では F₀F₁-ATP 合成酵素との複合体で **3-1a** がとる配座 (Figure 2, ×で示す点) に近い配座が頻繁に観測されたが、**3-1g** ではほとんど見られず、**3-1g** は **3-1a–3-1f** に比して生物活性が弱いことが予想された。以上の結果より、リンカーへのメチル基導入によって **3-1a** の構造と機能を効果的に改変できることが期待された。

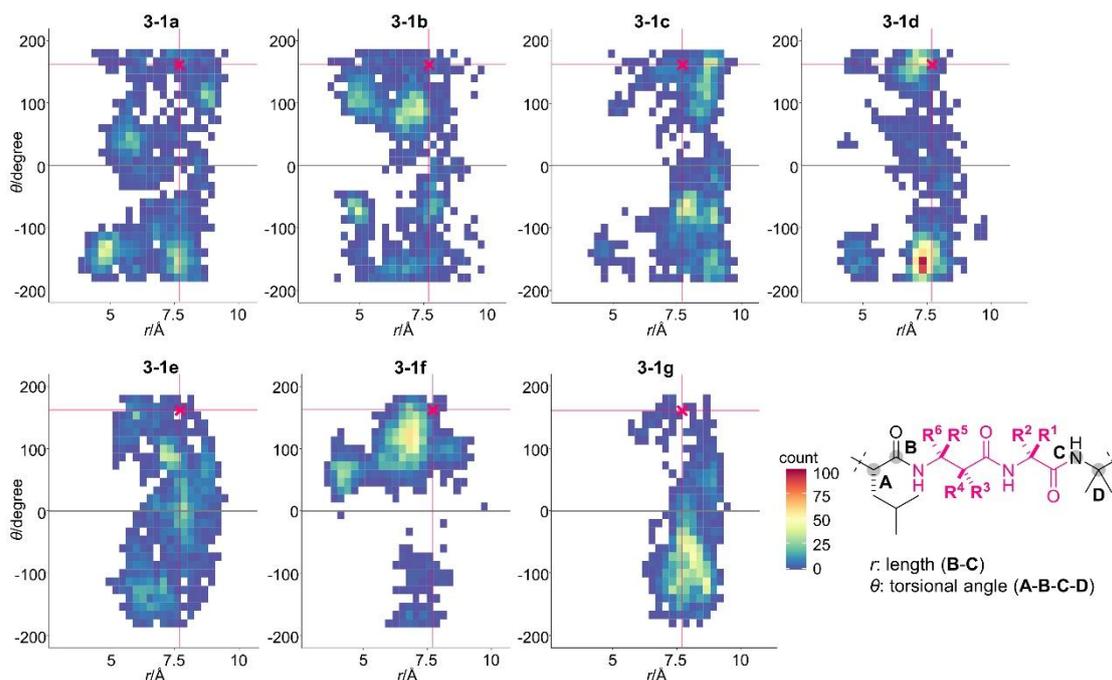


Figure 2. Two-dimensional histograms of the torsional angle (θ) against the length (r) of **3-1a–3-1g**. The 2000 structures for each peptide were generated in *n*-octanol.

続いて、**3-1a** および類縁体 **3-1b–3-1g** を統一的に固相全合成し、それぞれの立体配座を ECD スペクトル測定によって評価した(Figure 3)。その結果、合成した全てのメチル化類縁体 **3-1b–3-1g** は、天然物である **3-1a** と類似の ECD スペクトル形状を示し、**3-1a** の N 末端および C 末端が形成する 3_{10} -ヘリックス構造が保持されていることが示された。一方で、スペクトル強度を考慮すると、 3_{10} -ヘリックス含量は **3-1f** で最も多く、そのエピマーである **3-1g** で最も少ないことが示唆された。

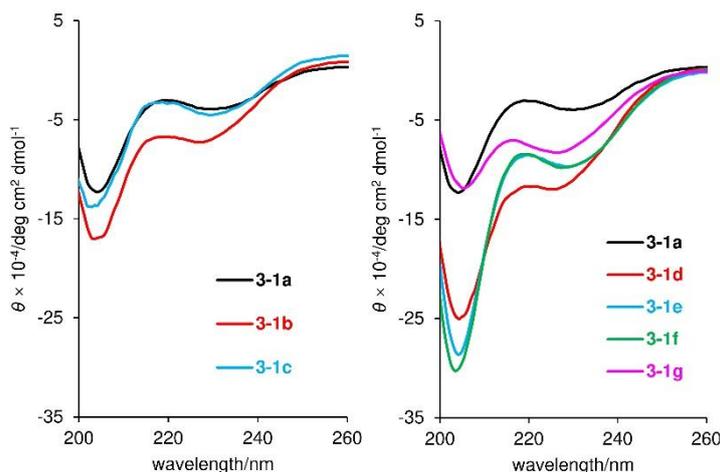


Figure 3. Electronic circular dichroism (ECD) spectra of **3-1a–3-1g**.

また、**3-1a–3-1g** の疎水性を、逆相 HPLC 法によって求められるオクタノール/水分配係数 $\log D$ によって比較した(Table 1)。その結果、**3-1b–3-1g** はメチル基の導入位置と立体配置によって顕著に異なる $\log D$ 値を示すことがわかった。また、類縁体の中で疎水性の高い群(**3-1b, 3-1d, 3-1e, 3-1f**)の

ECD スペクトルの強度は高く、 3_{10} -ヘリックス形成にともない、分子内水素結合によって高極性であるアミド結合が露出しなくなることで分子の極性が低下したことが想定された。すなわち、各化合物の疎水性の違いには、 3_{10} -ヘリックス含量の差が反映されていると想定した。

さらに、**3-1a-3-1g** の生物活性を評価した(Table 1)。まず、 F_0F_1 -ATP 合成酵素に対する ATP 産生阻害活性について評価したところ、天然物である **3-1a** と 5 種類のメチル化類縁体 **3-1b-3-1f** は同等の阻害活性(EC_{50} : 0.86–1.2 nM)を示した。その一方で、**3-1g** は分子動力学シミュレーションの配座分布や、ECD スペクトル解析において 3_{10} -ヘリックス含量の減少が示唆されたことに対応し、およそ 2 倍減弱した阻害活性を示した(EC_{50} : 2.6 nM)。続いて、ヒト乳がん細胞株 MCF-7 に対する増殖阻害活性を評価した。6 種類のメチル化類縁体は様々な活性を示し、中でも **3-1f** は天然物 **3-1a** よりも 4 倍強力な活性を示すことがわかった。加えて、正常細胞のモデルとして MCF-10A を用いて同様の評価を行い、**3-1a-3-1g** が優れたがん細胞選択性を示すことを明らかにした。

Table 1. Hydrophobicities and biological activities of **3-1a-3-1g**

compounds	log <i>D</i>	inhibition of ATP production (MCF-7 cells, EC_{50} , nM) ^a	growth inhibition	
			MCF-7 cells (GI_{50} , nM) ^a	MCF-10A cells (GI_{50} , nM) ^a
3-1a	2.03	1.2 ± 0.3	37 ± 7	326 ± 125
3-1b	2.43	1.2 ± 0.4	27 ± 8	213 ± 80
3-1c	2.04	0.86 ± 0.24	104 ± 21**	583 ± 207
3-1d	2.11	1.1 ± 0.1	30 ± 9	323 ± 137
3-1e	2.35	0.95 ± 0.27	14 ± 4	96 ± 50
3-1f	2.54	0.92 ± 0.17	8.8 ± 0.4*	57 ± 31
3-1g	1.93	2.6 ± 0.1**	173 ± 20**	>1000

log *D* hydrophobic hydrophilic
 EC_{50}/GI_{50} potent weak

^aThe mean values of three independent experiments are displayed with SD. * $p < 0.05$ and ** $p < 0.01$ determined by Dunnett's test.

ATP 合成阻害活性と MCF-7 細胞に対する増殖阻害活性の差異は、各化合物の疎水性に起因している。実際に、化合物 **3-1a-3-1g** の log *D* 値に対して 50%増殖阻害濃度の常用対数[-log(GI_{50})]をプロットすると、両者は相関を示し(Figure 4a)、高い疎水性によって膜透過性が向上した類縁体が強力な細胞増殖阻害活性を示したことが強く示唆された。

最後に、**3-1a** と最も強力ながん細胞増殖阻害活性を示したメチル化類縁体 **3-1f** について、プロテアーゼに対する加水分解耐性を評価した(Figure 4b)。その結果、**3-1f** は **3-1a** よりもシステインプロテアーゼであるパパインに対する加水分解耐性が向上していることがわかった。これらの性質を総合し、**3-1f** は **3-1a** に比して優れた抗がん活性化合物としての性質をもつことを明らかにした。

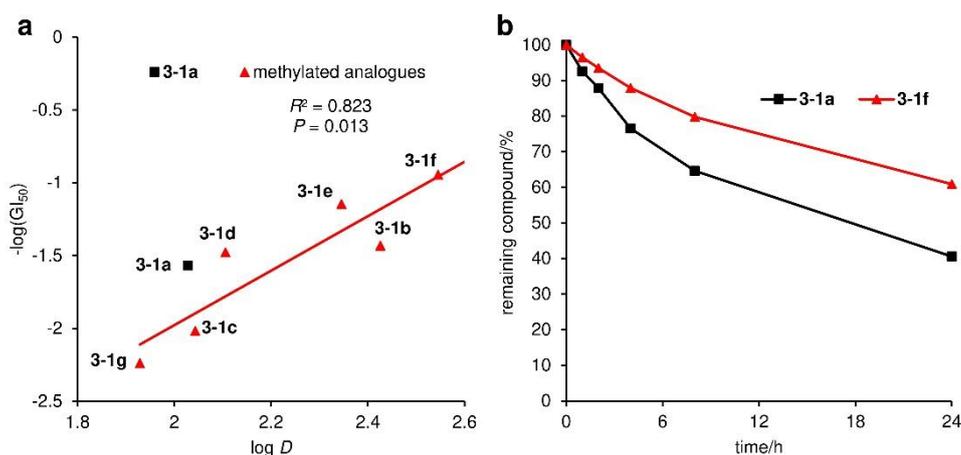


Figure 4. (a) Plot of $-\log(GI_{50})$ values against $\log D$ values of **3-1a–3-1g**. (b) Proteolytic stability of **3-1a** and **3-1f** against papain.

本研究において、最小の炭化水素基であるメチル基を **3-1a** の柔軟なリンカー領域に導入することで、優れたがん細胞増殖阻害活性と加水分解耐性をもつ新規類縁体 **3-1f** を創出することに成功した。メチル化による分子の性質の改変は低分子化合物の創薬研究などで多く試みられているが、柔軟な鎖状ペプチドに対する適用例は限られていた。本研究において示した方法論は、鎖状ペプチド天然物の有用性を高める重要なものである。

学 術 論 文

- 1) J. Taguchi, S. Fukaya, H. Fujino, M. Inoue, “Total Synthesis of Euphorbialoid A,” *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, *146*, 34221–34230.
- 2) Y. Lin, H. Itoh, S. Dan, M. Inoue, “Methyl scanning approach for enhancing the biological activity of the linear peptidic natural product, efrapeptin C,” *Chem. Sci.* **2024**, *15*, 19390–19399.
- 3) T. Kato, K. Hagiwara, M. Inoue, “Generation and Coupling of Radical Species from α -Alkoxy Bridgehead Carboxylic Acid, Selenide, Telluride, Acyl Selenide, and Acyl Telluride,” *Chem. Pharm. Bull.* **2024**, *72*, 767–771.
- 4) Y. Yamada, R. Yoshinaga, Y. Matsui, M. Nagatomo, H. Fujino, M. Inoue, “ Et_3Al /Light-Promoted Radical-Polar Crossover Reactions of α -Alkoxyacyl Tellurides,” *J. Org. Chem.* **2024**, *89*, 11701–11706.
- 5) A. Watanabe, Y. Hikone, M. Nagatomo, M. Inoue, “Conversion of Phorbol into Des-D-Ring Tricycle and Crotonianoid B via Peroxidation Reaction,” *Org. Lett.* **2024**, *26*, 4335–4339.
- 6) H. Mutoh, Y. Watanabe, D. Kamakura, K. Hagiwara, M. Inoue, “Unexpected Formation of 11(9 \rightarrow 7)-abeo-Steroid Skeleton in Synthetic Studies toward Batrachotoxin,” *Chem. Pharm. Bull.* **2024**, *72*, 360–364.
- 7) A. Watanabe, M. Nagatomo, A. Hirose, Y. Hikone, N. Kishimoto, S. Miura, T. Yasutake, T. Abe, S. Misumi, M. Inoue, “Total Syntheses of Phorbol and 11 Tiglane Diterpenoids and Their Evaluation as HIV Latency-Reversing Agents,” *J. Am. Chem. Soc.* **2024**, *146*, 8746–8756.
- 8) H. Asai, K. Hagiwara, M. Inoue, “Enantioselective route to an AE-ring intermediate in the total synthesis

of talatisamine,” *Tetrahedron Lett.* **2024**, *135*, 154903.

総説・著書

- 9) H. Fujino, M. Inoue, “Convergent Total Synthesis of Hikizimycin: Development of New Radical-Based and Protective Group Strategies,” *Modern Natural Product Synthesis*, M. Nakada, K. Tanino, K. Nagasawa, S. Yokoshima, Eds.; Springer, pp 127–144 (2024). ISBN: 9789819716197

受賞

- 1) 井上将行, 2025 Arthur C. Cope Scholar Award (American Chemical Society)
- 2) 井上将行, “Total Synthesis of Highly Oxygenated Natural Products,” 名古屋シルバーメダル (MSD 生命科学財団)
- 3) 伊藤寛晃, “固相戦略が拓くペプチド系複雑天然物の全合成と機能応用への展開,” Chemist Award BCA (MSD 生命科学財団)
- 4) 萩原浩一, “極性官能基を有する複雑天然物の効率的全合成:1 工程での分子の複雑化,” 第 23 回天然物化学談話会 奨励賞
- 5) 渡邊祐基 (博士課程 3 年), “バトラコトキシンの全合成,” 第 66 回天然有機化合物討論会 奨励賞
- 6) 渡邊祐基 (博士課程 2 年), “メセンダニン J の全合成研究,” 日本薬学会第 144 年会 学生優秀発表賞
- 7) 大賀恭平 (博士課程 2 年), “クラジェニセリン D 報告構造の全合成,” 第 125 回有機合成シンポジウム 優秀発表賞
- 8) 山田雄太郎 (博士課程 2 年), “光照射下進行するラジカル-極性交差型 2 成分および 3 成分反応の開発,” 第 86 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム 優秀発表賞
- 9) 松本真那果 (修士課程 1 年), “マプロウネアシンの合成研究,” 日本薬学会第 144 年会 学生優秀発表賞
- 10) 望月想太 (修士課程 1 年), “ユーフォルベスリン A の合成研究,” 第 87 回有機合成化学協会関東支部シンポジウム 学生講演賞
- 11) 澤田瑞希 (学部 5 年), “海洋産シデロフォア ロイヒケリン C および人工類縁体の固相全合成と機能解析,” 日本薬学会第 144 年会 学生優秀発表賞

招待講演

- 1) M. Inoue, “Total Synthesis of Highly Oxygenated Natural Products,” Sponsored Symposium: Green Catalysis The 145th Annual Meeting of the Pharmaceutical Society of Japan, Fukuoka International Congress Center, Fukuoka, Japan, March 27, 2025
- 2) M. Inoue, “Total Synthesis of Highly Oxygenated Natural Products,” The 26th Nagoya Medal of Organic Chemistry, Noyori Conference Hall, Nagoya University, Nagoya, Japan, January 24, 2025
- 3) M. Inoue, “Total Synthesis of Highly Oxygenated Natural Products,” The Art and Science of Total

Synthesis of Natural and Designed Molecules for Biology and Medicine: Synthetic Strategies and Methods (ASTS-NDM 2024), Club de la Chasse et de la Nature, Paris, France, October 4, 2024

- 4) M. Inoue, "Total Synthesis of Highly Oxygenated Natural Products," Gordon Research Conference Natural Products and Bioactive Compounds, Proctor Academy, Andover, NH, USA, July 28, 2024
- 5) M. Inoue, "Total Synthesis of Highly Oxygenated Natural Products," 9th EuChemS, Advances in Synthetic Organic Chemistry, Dublin, Ireland, July 11, 2024
- 6) H. Itoh, M. Inoue, "Solid-Phase Total Synthesis of Structurally Complex Peptidic Natural Products and Its Application," 12th Singapore International Chemical Conference, Max Atria, Singapore Expo, Singapore, December 12, 2024
- 7) 井上将行, "巨大複雑天然物の全合成: 基質設計と方法論開発," シンポジウム〜岸義人先生を偲ぶ会, 名古屋大学 野依記念学術交流館 (愛知県, 名古屋市), 2024年9月7日
- 8) 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), 2024年7月28日
- 9) 伊藤寛晃, "ペプチド系複雑天然物の全合成と構造多様化が拓く科学," 日本薬学会東海支部特別講演会, 静岡県立大学 (静岡県, 静岡市), 2024年8月22日
- 10) 伊藤寛晃, "異常アミノ酸含有天然物類縁体ライブラリー構築による化合物潜在空間探索," 潜在空間分子設計第2回公開シンポジウム, 東北大学 (宮城県, 仙台市), 2024年6月12日
- 11) 伊藤寛晃, "固相全合成を基盤としたペプチド系複雑天然物の構造多様化と機能向上," 日本薬学会 第144年会, パシフィコ横浜 (神奈川県, 横浜市), 2024年3月30日
- 12) 萩原浩一, "新たな分子複雑化戦略による官能基密集型天然物の効率的全合成," 化生談話会, 東京大学 (東京都, 文京区), 2024年12月19日