

(第 34 回)
公益財団法人 篷庵社
研究助成発表会
講演要旨集

平成 27 年 7 月 31 日 (金)

於 塩野義製薬株式会社 医薬研究センター

プ ロ グ ラ ム

日 時 :平成 27 年 7 月 31 日(金) 13 時 00 分から 17 時 20 分まで

場 所 :塩野義製薬株式会社医薬研究センター オーディトリウム

* 所属は講演当時のもの

13:00-13:05	ご挨拶 公益財団法人篷庵社 理事長 武田 禮二	
	<u>演題および演者(講演 25 分、討論 15 分)</u>	<u>座 長</u>
13:05-13:45	1. 環境ニッチに着目した筋萎縮性側索硬化症の創薬ターゲット探索 三澤 日出巳 先生 (慶應義塾大学薬学部 薬理学講座 薬理学研究室)	(篷庵社理事) 佐藤 公道 先生
13:45-14:25	2. トランスポーターを基盤とする創薬と最適薬物療法に関する研究 玉井 郁巳 先生 (金沢大学医薬保健研究域薬学系 薬物動態学研究室)	(篷庵社評議員) 辻 彰 先生
14:25-15:05	3. 新規概念に基づくエナンチオ選択的触媒反応の創出と応用 笹井 宏明 先生 (大阪大学産業科学研究所 機能物質化学研究分野)	(篷庵社理事) 村橋 俊一 先生
15:05-15:20	休 憩	
15:20-16:00	4. ベンザイン反応を基軸とする縮合複素環化合物の位置制御合成 赤井 周司 先生 (大阪大学大学院薬学研究科 薬品製造化学分野)	(篷庵社理事) 北 泰行 先生
16:00-16:40	5. 新規 1, 3-双極子の開発と応用研究 田村 修 先生 (昭和薬科大学薬学部 薬化学研究室)	(篷庵社元理事) 北川 勲 先生 代理 北 泰行 先生
16:40-17:20	6. 《特別研究助成》 小員環炭化水素を構造素子とする創薬リード化合物の創製 高須 清誠 先生 (京都大学大学院薬学研究科 薬品合成化学分野)	(塩野義製薬㈱ コア疾患創薬研究所) 井宗 康悦 氏

目 次

1. 三澤 日出巳

「環境ニッチに着目した筋萎縮性側索硬化症の創薬ターゲット探索」

1

2. 玉井 郁巳

「トランスポーターを基盤とする創薬と最適薬物療法に関する研究」

11

3. 笹井 宏明

「新規概念に基づくエナント選択的触媒反応の創出と応用」

21

4. 赤井 周司

「ベンザイン反応を基軸とする縮合複素環化合物の位置制御合成」

32

5. 田村 修

「新規 1, 3-双極子の開発と応用研究」

33

6. 高須 清誠

「小員環炭化水素を構造素子とする創薬リード化合物の創製」

41

環境ニッチに着目した筋萎縮性側索硬化症の創薬ターゲット探索

慶應義塾大学薬学部 薬理学講座

三澤 日出巳

1. はじめに

筋萎縮性側索硬化症（Amyotrophic Lateral Sclerosis：ALS）は、大脳皮質運動野の上位運動ニューロン及び脳幹と脊髄の下位運動ニューロンが、選択的かつ系統的に障害される神経変性疾患である。ほとんどの患者は 50～60 代の中年期以降で発症し、構音障害や嚥下困難、呼吸筋麻痺などを経て、人工呼吸器を使用しない場合は平均して発症後 3～5 年で死に至る。ALS の臨床症状は個人差が大きく、進行速度や病状の多様性から複数の病因および環境因子が関与している可能性が示唆されている。治療薬としてはリルゾールが上市されているが、その効果は限定的であるとされる。

ALS における運動ニューロン (MN) の変性には細胞ごとの違いがある。骨格筋に投射するアルファ MN は筋紡錘に投射するガンマ MN よりも変性しやすいことが知られている。また、ほぼ全身の筋肉が麻痺する ALS 疾患終期でも、外眼筋や肛門・尿道の括約筋に投射する MN プールは機能が保持される。さらに、それぞれの MN プール内でも、速筋 (白筋) に投射する MN (Fast MN) は疾患の初期から変性が始まるが、遅筋 (赤筋) に投射する MN (Slow MN) は疾患の後期まで変性がおこりにくい。この様に、ALS における MN の変性には明らかなプールおよびサブタイプ選択性がある¹⁾。近年、家族性 ALS の原因遺伝子が多数同定され、MN 変性に繋がる共通パスウェイが急速に解明されつつあるが²⁾、上記の選択的脆弱性をもたらすメカニズムについては依然として謎に包まれている。MN サブタイプと対応する筋線維との関連を図 1 に示す。

MNs (ChAT+)

αMNs (NeuN+)

γMNs (Err3+)

{

FF (Fast-twitch fatigable)

FR (Fast-twitch fatigue-resistant)

S (Slow-twitch fatigue-resistant)

Type of motor neuron	FF	FR	S
Targeting muscle fiber	II b	II a	I
Cell body size	Larger	Medium	Smaller
Innervation rate	Larger	Medium	Smaller
Conduction velocity	Faster	Medium	Slower
Excitability	Low	Medium	High
Vulnerability in ALS	High	Medium	Low
Marker proteins	Unknown		

図 1. 運動ニューロンと筋線維

ALS で変性するアルファ MN は投射する筋線維のタイプにより、FF (fast-twitch fatigable)、FR (fast-twitch fatigue-resistant)、S (slow-twitch fatigue-resistant) の 3 種のモーターユニットに分類される。ALS では、病態進行に伴い FF、FR の順序で変性が起こり、S は変性に抵抗性であることが知られている。現在これらの MN サブタイプを識別できる分子マーカーは確立されていない。我々はこれまでに、細胞外マトリクス (ECM) 蛋白質であるオステオポンチン (OPN) がアルファ MN に特異的に発現し³⁾、MN の変性に伴い細胞外に放出されて ECM に蓄積することを報告している。一方で、Fast MN に特異的に発現する分子としてマトリクス・メタロプロテアーゼ 9 (MMP-9) の報告がある⁴⁾。OPN は MMP-9 の発現・活性化に関与し、がん転移や免疫・炎症性疾患、心血管病などの様々な病態に重要であることが知られている⁵⁾。そこで我々は、OPN の MN サブタイプマーカーとしての有用性と、ALS モデルマウスにおける MN 選択的脆弱性との関連について解析するとともに、ALS の創薬ターゲットの探索を行った。

2. MN における OPN 発現のサブタイプ選択性

野生型マウス脊髄を OPN、MMP-9 および ChAT (MN のマーカー) により染色したところ、OPN と MMP-9 は異なる MN に発現していた。OPN および MMP-9 の染色強度により、MN は 4 種類に分類された (図 2)。

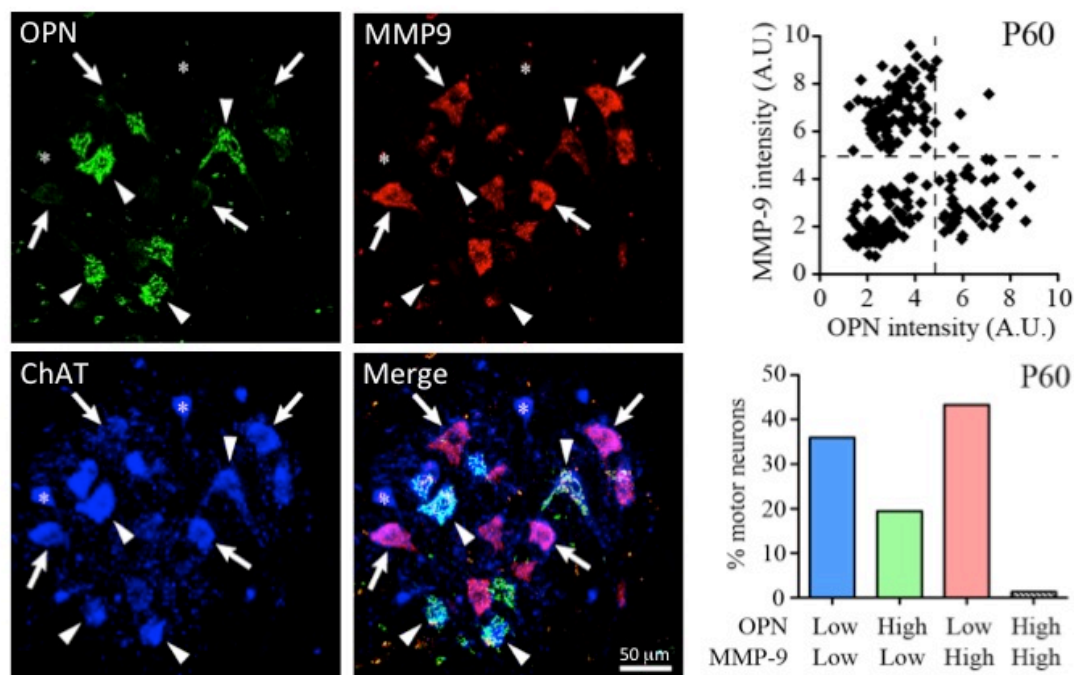


図 2. OPN と MMP-9 は異なる MN サブタイプで発現する

また、赤筋及び白筋の筋線維タイプ (I, IIA, or IIB) の分別染色および神経筋接合部の α -bungarotoxin による染色により、OPN は FR または S タイプ MN に特異的に発現することを見出した。さらに、ALS で変性に抵抗性があることが知られている肛門括約筋に投射する MN (ヒトの Onuf 核に相当する) を逆行性色素を注入して標識したところ、標識 MN の多くは OPN-high/MMP-9-low のタイプであった (図 3)。

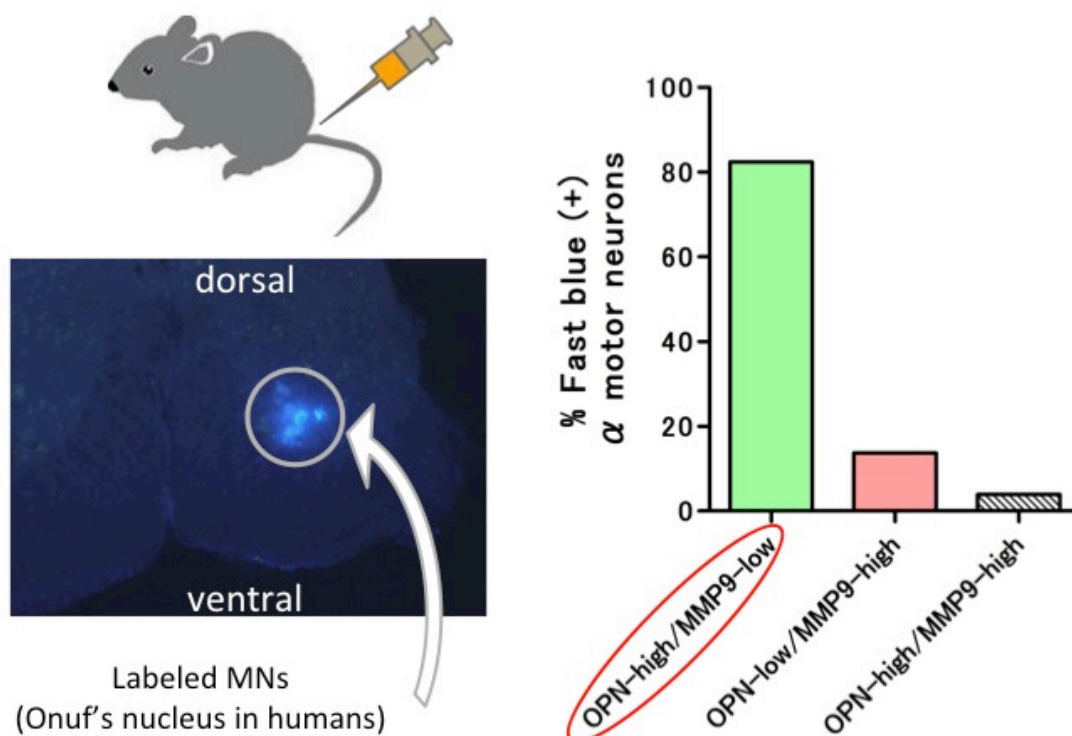


図 3. ALS で変性ににくい MN は OPN を発現している

3. ALS モデルマウスの病態進行に伴う OPN の発現変化

家族性 ALS の約 20% を占める SOD1 変異の疾患遺伝子をマウスで過剰発現させたモデルは、ヒト ALS と類似の筋萎縮、グリア細胞の活性化、脊髓前角での運動ニューロン消失など、ALS 患者と同様の病態を示すことから、ALS のモデル動物として世界中で使用されている⁶⁾。そのうちで代表的な SOD1^{G93A} ALS モデルマウスの各病期の脊髓における OPN および MMP-9 の発現を検討したところ、病気の進行に伴い MMP-9 陽性 MN の数が最初に減少し、その後 OPN 陽性 MN の数が減少する傾向が見られた。また ALS 発症期の前後において、野生型マウスではほとんど観察されない OPN 及び MMP-9 共陽性の MN (ダブルポジティブ MN) が観察された (図 4)。このダブルポジティブ MN は、FF モーターユニットの変性 (第 1 波の MN 変性) の後に代償的にリモデリングした FR または S であることを、筋線維サブタイプの分

別染色および筋肉への逆行性神経トレーサー注入により確認した。さらに、ダブルポジティブ MN では小胞体ストレスマーカーである P-eIF2 α や ATF3 の発現上昇および OPN 受容体であるインテグリン (α v β 3) の発現が観察された。以上より、ALS 病態進行における第 2 波の MN 変性の機序に、OPN によるインテグリンを介した MMP-9 の活性化が関与することが示唆された。

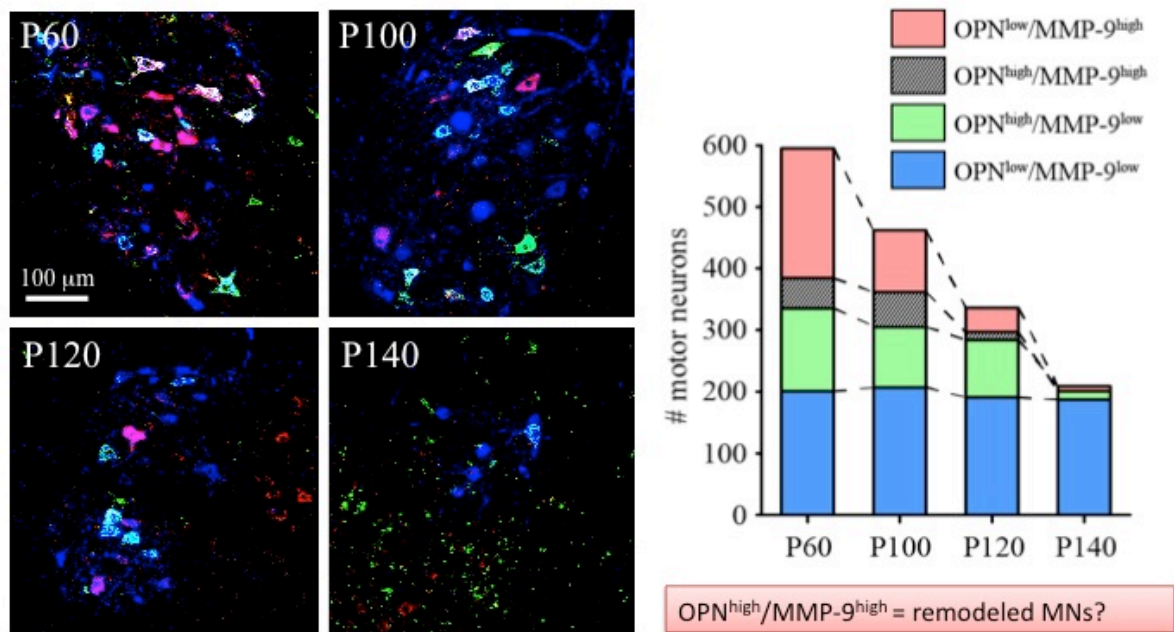


図 4. SOD1^{G93A} ALS モデルマウスの病態進行に伴う OPN/MMP-9 の解析

4. ALS 病態進行に伴う OPN の MN からの放出と ECM への蓄積

OPN はリン酸化や糖鎖付加などの翻訳後修飾を高度にうける細胞外マトリクス (ECM) 構成タンパク質であることが知られている。SOD1^{G93A} マウスの病態進行に伴う OPN の免疫組織染色を詳細に検討すると、OPN は野生型では主として MN で発現が認められるのに対し、疾患終期のモデルマウス (SOD1^{G93A}, SOD1^{G85R} および SOD1^{G37R}) では粒状の OPN 陽性構造物 (OPN 顆粒) が観察された。次に病状進行に伴う OPN の発現変動を経時的に解析するため、SOD1^{G93A} マウスを発症前 (約 60 日齢)、発症期 (約 100 日齢)、疾患初期 (約 120 日齢)、疾患進行期 (約 140 日齢)、疾患終期 (約 170 日齢) のそれぞれの段階に分けて免疫組織染色を行った。発症前から発症期では、OPN は野生型と同様に運動ニューロンに発現していたが、病状進行に伴いその発現は低下傾向にあった。また、疾患初期から OPN 顆粒が現れ、疾患進行期、疾患終期と症状が進行するにつれてその密度の増加が観察された (図 5)。蛍光二重染色により発現細胞の特定を試みたところ、多くの OPN 顆粒がミクログリアと共局在

していた。In-situ hybridization 法により OPN mRNA の発現細胞を検討したところ、MN では OPN mRNA の発現が認められるものの、多くのミクログリアでは OPN mRNA の発現は認められず、貪食により OPN 顆粒を取り込んでいることが示された。

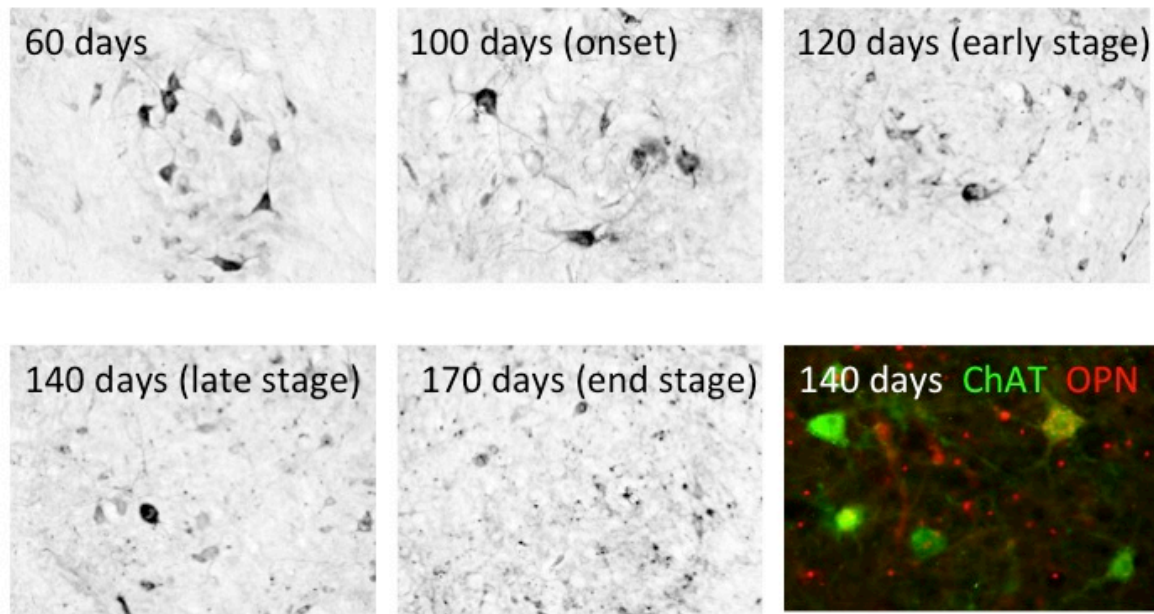


図 5. SOD1^{G93A} マウスの病態進行に伴う OPN 細胞外顆粒の蓄積

5. OPN 欠損マウスでの ALS 病態進行の解析

OPN ノックアウトマウスと SOD1^{G93A} マウスを掛け合わせ、OPN を欠損させた SOD1^{G93A} マウス:SOD1^{G93A}/OPN (-/-) の病状進行を検討したところ、通常の SOD1^{G93A} マウスに比べて、発症時期 (onset) が約 10 日間遅延し、発症から死亡までの期間 (progression) は約 10 日間短縮し、トータルの生存期間 (survival) に変化はなかった (図 5)。次に、ALS 病態進行に伴う筋力低下を検討するため、前肢の握力 (grip strength) の変化を測定した。SOD1^{G93A}/OPN (-/-) マウスでは他の 2 群に比べ発症期 (約 100 日齢) から疾患初期 (約 120 日齢) にかけて筋力が維持されているフェーズが観察された。すなわち ALS マウスにおいて OPN を欠損させると、筋力の低下が遅延する傾向にあることが明らかとなった。さらに、この結果をより詳細に解析するため、握力の差が見られた約 100 日齢のマウスの腓腹筋を採取しヘマトキシリン・エオジン染色を行なった。SOD1^{G93A}/OPN (-/-) マウスでは変性した筋肉に特徴的な centrally placed nuclei (細胞の中心に単独または複数存在する核: 中心核) の数が少ない組織像が得られた。このような中心核の割合を定量的に解析したところ、通常の ALS マウスと比べ有意な差が確認された (図 6 A, B)。更に、筋肉の分化マーカー

一であるニコチン性アセチルコリン受容体 γ -サブユニットの発現量を定量的 PCR で解析したところ、筋肉変性に伴う発現量の上昇（筋肉の脱分化を反映する）が OPN 欠損 ALS マウスでは抑制されていた（図 6 C）。

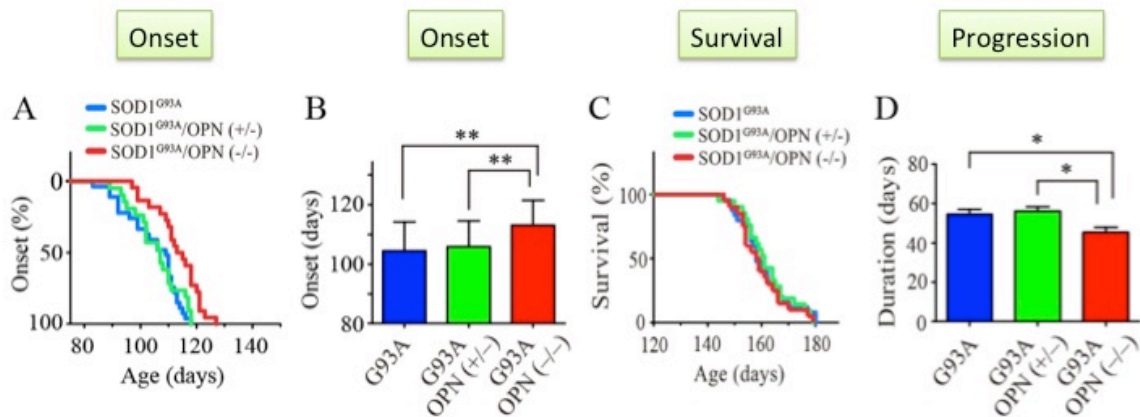


図 5. OPN の欠損は ALS モデルマウスの発症を遅延させ、進行を加速する

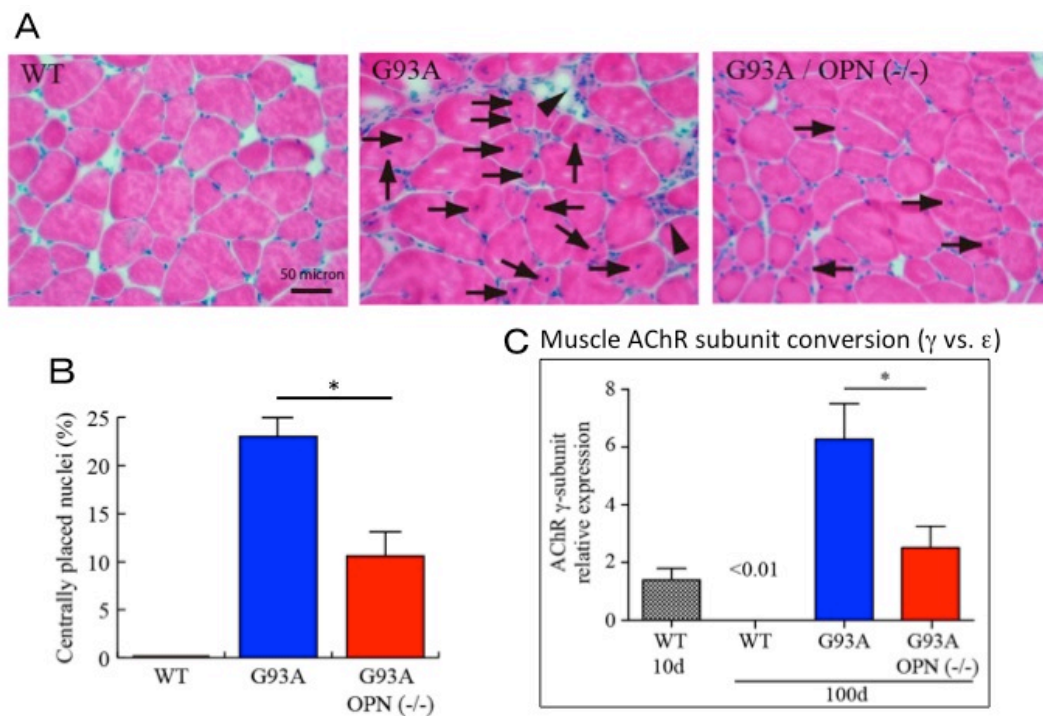


図 6. OPN の欠損は ALS モデルマウスの筋肉変性を遅延させる

6. OPNのアストロサイトに対する作用

ALSの病理学的特徴として、脊髄前角においてグリア細胞が増殖・活性化する神経炎症という現象が知られているが、近年の研究からALSの病態進行を規定するのはMNよりもむしろこうしたグリア細胞であることが明らかとなっている⁷⁾。また一方で、OPNはグリア細胞を介して神経保護作用を示すことが知られている。OPNの主要な受容体のうち、アストロサイトではインテグリン ($\alpha_v\beta_3$) の発現は見られず、CD44のみが観察された。CD44は野生型や発症前のSOD1^{G93A}マウスでは主として脊髄白質のアストロサイトで発現が認められたが、病態進行に伴い白質だけでなく灰白質にも斑点状の染色像が見られるようになり、疾患終期には白質と灰白質ともにCD44の強い発現が認められた。一方、SOD1^{G93A}/OPN(-/-)マウスではSOD1^{G93A}の同疾患期と比較して、このような灰白質でのCD44の発現の広がりや時間経過が遅れることが確認された。これらのことから、ALSモデルマウスにおいてMNからECMへと放出されたOPNが、脊髄白質のアストロサイトを活性化させ、変性MNの近傍(灰白質)へと浸潤させている可能性があると考えた。

そこで、これを検討するためにOPNに対するアストロサイトの運動能(走触性)を解析した。培養皿基質に固相化したOPNは強力にアストロサイトを誘引したが、この性質はCD44中和抗体にて細胞を前処理することにより抑制された(図7A)。このことからOPNはCD44を介してアストロサイトの運動能を亢進させることが示された。続いて、細胞の運動能に関する分子としてアクチンに着目して細胞免疫染色を行ったところ、OPN刺激条件下ではアストロサイトの細胞体が肥大化し突起を伸長させた染色像が得られた(図7B)。これはOPNによりアクチンの重合が促進されたことを示している。また、OPNは、細胞膜に発現するCD44を介し、アクチンを架橋するタンパク質であるERMを活性化させることも見出され、OPNがアストロサイトの形態変化を引き起こすことが明らかとなった(図7C, D)。

7. OPNのミクログリアに対する作用

上記の解析から、OPN顆粒の一部がミクログリアと共局在を示し、ミクログリアの貪食機構によりECMから除去されている可能性が考えられた。そこで、粒子状OPNを模したタンパク質結合蛍光ビーズ(3 μm)を作製し、OPNのオプソニン作用を解析したところ、OPNは培養ミクログリアに貪食されることが確認された。さらにその作用はインテグリン ($\alpha_v\beta_3$) を介していないことが判明した(図8)。

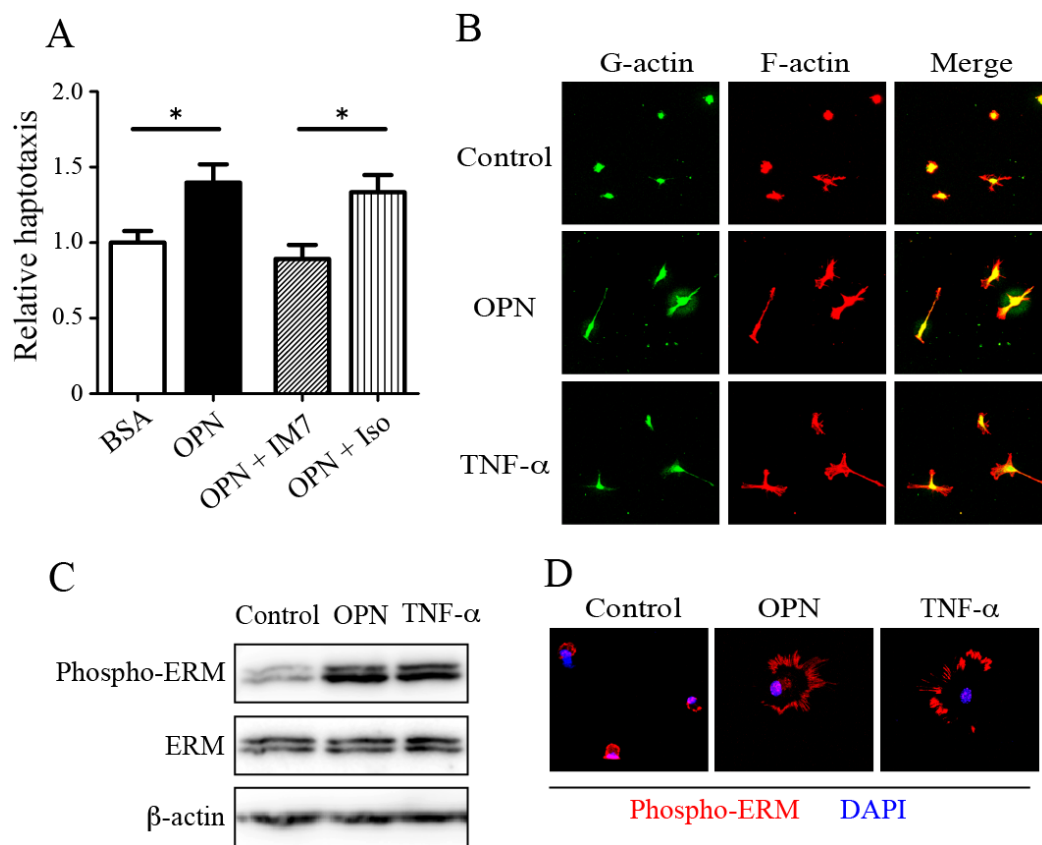


図 7. OPN の培養アストロサイトに対する作用

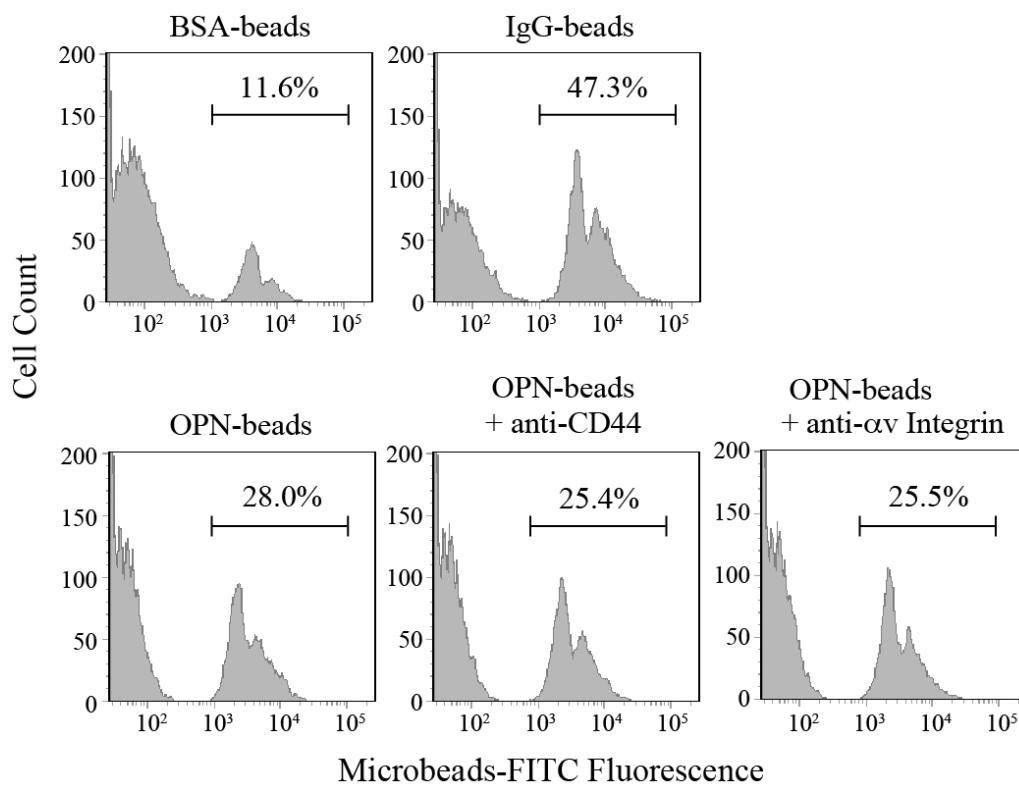


図 8. OPN の培養ミクログリアに対する作用

8. おわりに

本研究では、OPN の MN サブタイプ特異的マーカーとしての有効性と ALS モデルマウスにおける MN の選択的脆弱性における役割を解析した。OPN は ALS で変性に抵抗性の MN サブタイプ (FR/S) に発現し、病態進行に伴い細胞外に放出され、ECM で粒子状構造物として観察される。FR/S MN は、ALS の病態初期に denervation する FF MN を代償し、本来 FF MM が投射している Type IIB 筋線維に向かってリモデリング・シナプス再結合するが、このとき OPN は $\alpha\text{v}\beta 3$ インテグリンを介して MMP-9 の発現を増加させ、これが FR/S MN の変性 (ALS における第 2 波の神経変性) に関与すると考えられる。

我々は、OPN ノックアウトマウスと ALS モデルマウスとの掛け合わせ実験の結果、OPN は ALS の病態進行に 2 面性の作用を示すことを見出した。すなわち、MN に対しては ALS の発症を加速させる因子として働き、グリア細胞に対して ALS の進行を遅延させる因子として働く可能性が示唆された。さらにこの時、MN に対する作用には $\alpha\text{v}\beta 3$ インテグリンが関与するが、グリア細胞に対する作用は別の受容体を介することが判明した(図 9)。

以上より、ALS の新たな創薬ターゲットとして OPN- $\alpha\text{v}\beta 3$ インテグリン-MMP-9 を新たに見出した。この系は ALS の第 2 波の神経変性に関与するため、適切な初期診断法の開発と組み合わせることで、発症後にも有効な治療薬のターゲットとなる可能性が考えられる。

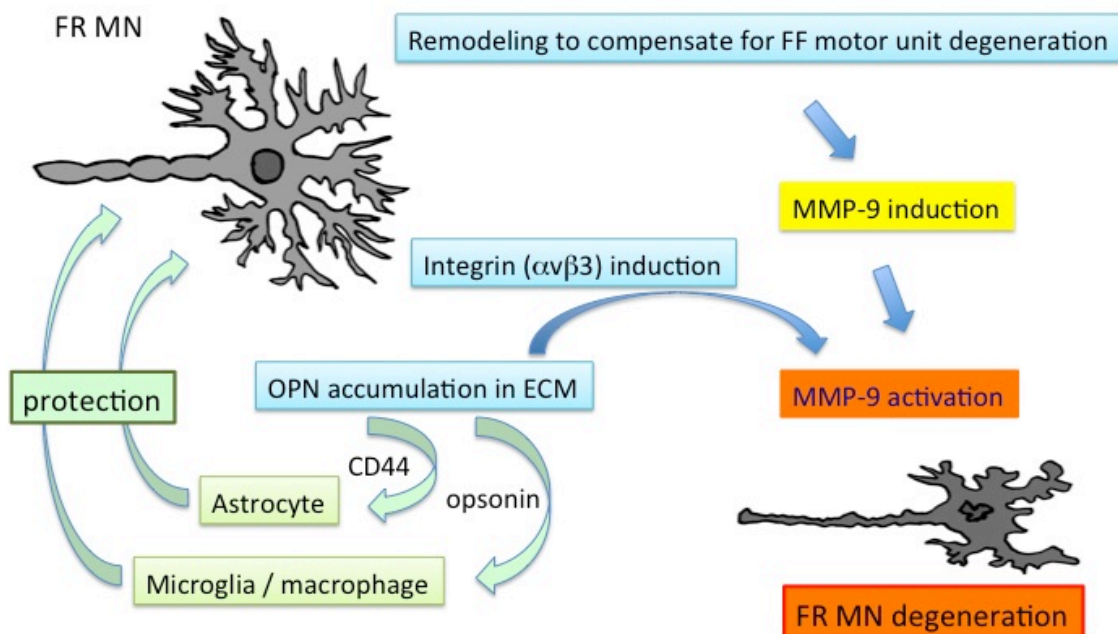


図 9. OPN の ALS 病態進行への 2 面性作用

謝辞

本研究の一部は公益財団法人蓬庵社の研究助成によるものであり、深謝いたします。
また、ご推薦を賜りました佐藤公道先生に厚く御礼申し上げます。

参考文献

- 1) Kanning, K.C., Kaplan, A., and Henderson, C.E. (2010). Motor neuron diversity in development and disease. *Annu. Rev. Neurosci.* 33, 409-440.
- 2) Peters, O.M., Ghasemi, M., and Brown, R.H.Jr. (2015). Emerging mechanisms of molecular pathology in ALS. *J. Clin. Invest.* 125, 1767-1779.
- 3) Misawa, H., Hara, M., Tanabe, S., Niikura, M., Moriwaki, Y., and Okuda, T. Osteopontin is an alpha motor neuron marker in the mouse spinal cord. *J. Neurosci. Res.* 90, 732-742.
- 4) Kaplan, A., Spiller, K., Towne, C., Kanning, K.C., Choe, G.T., Geber, A., Akay, T., Aebischer, P., and Henderson, C.E. (2014). Neuronal matrix metalloproteinase-9 is a determinant of selective neurodegeneration. *Neuron* 81, 333-348.
- 5) Lund, S.A., Giachelli, C.M., and Scatena, M. (2009). The role of osteopontin in inflammatory processes. *J. Cell Commun. Signal.* 3, 311-322.
- 6) Turner, B.J., and Talbot, K. (2008). Transgenesis, toxicity and therapeutics in rodent models of mutant SOD1-mediated familial ALS. *Prog. Neurobiol.* 85, 94-134.
- 7) Philips, T., and Robberecht, W. (2011). Neuroinflammation in amyotrophic lateral sclerosis: role of glial activation in motor neuron disease. *Lancet Neurol.* 10, 253-263.

トランスポーターを基盤とする創薬と最適薬物療法に関する研究

金沢大学医薬保健研究域薬学系 薬物動態学研究室

玉井郁巳

1：はじめに

薬物の体内動態特性は、薬効・毒性を左右するとともに、医薬品の投与経路や持続性など薬物療法の最適化を推進する上で重要な因子であり、創薬・開発段階の候補化合物スクリーニングや薬物の投与方法を決定するために必須な基本情報となる。薬物動態を左右する生体側因子は、主には安定性を左右する薬物代謝酵素、細胞膜透過を左右する薬物トランスポーター、ならびにアルブミンなど薬物結合タンパク質である。本研究ではこのような様々な因子の中で、トランスポーターに着目し、医薬品の作用・副作用に関する研究を行った。

トランスポーター分子はヒトでは 400 分子程度存在し、その一部は薬物トランスポーターとして、また多くはそれぞれの分子に特有な生理機能を担う生理的トランスポーターとして働いている。そのため、トランスポーターの活性変動が生理的状态を乱し、疾患等の異常が引き起こされることがあるとともに、トランスポーター活性を調節できればそれ自体が創薬標的として設定することが期待できる。一方、近年では、薬物療法上複数の医薬品が同時に服用されるため、併用薬がトランスポーター活性に影響するために、薬物間相互作用や生理作用変動による副作用の発現も報告されるようになった。このような医薬品の安全性の問題から、2010 年には米国 FDA からトランスポーター上での薬物間相互作用による副作用の回避を目的とした臨床試験に関する白書が提案されるに至った。その後、欧州 EMA から同様の臨床試験に関するガイダンスが出されると同時に本国においても薬物相互作用に関する臨床試験の考え方に関するガイダンスの改訂版が出される予定である。このようにトランスポーターとして多様な分子が存在しているため、各分子の薬物動態や薬理作用・副作用への関与の情報は未だ不十分な状況にある。そのような中で本研究では、(1) 痛風発作をはじめ慢性腎疾患や循環器系疾患との関連が示されている尿酸調節に働くトランスポーターとそれに対する医薬品の影響、ならびに (2) 多様な医薬品ならびにステロイドホルモンの代謝物やビリルビンなど幅広い基質選択性を有し、複数の分子から形成される分子を有する有機アニオントランスポーター OATP (SLCO) ファミリーに関する研究を実施した。本発表では特に前者の尿酸動態に及ぼす医薬品の影響に関して述べる。

2：医薬品が及ぼす血清尿酸値変動

尿酸 (Uric acid) は、ヒトではげっ歯類など他の動物に比べて血漿中濃度が高く維持される特徴を持ったためヒトを反映する動物モデルが不十分なために、古い化合物であるが関連情報は不十分な状況にある。日本では、血清尿酸 (SUA) 値が 7mg/dL を超えると高尿酸血症と診断され、

を受けた尿酸の 10%のみが尿中に排泄され、90%は再吸収を受け体内に維持されており、それは 4-コンポーネントモデルとして説明されている。再吸収ならびに分泌にはトランスポーターの関与が必須であるにもかかわらず長い間その分子の実体は不明であった。しかし、2000 年代になって尿酸動態に関与するトランスポーター分子が明確になり始め、現時点では尿酸動態に関わる可能性のある腎トランスポーターが図 1 のように考えられるに至っている。特に、URAT1 (SLC22A12) と呼ばれるトランスポーターは再吸収において必須であり、古くから尿酸排泄促進薬として使用されているベンズブロマロンやプロベネシドのターゲット分子として 2002 年に同定された (2)。

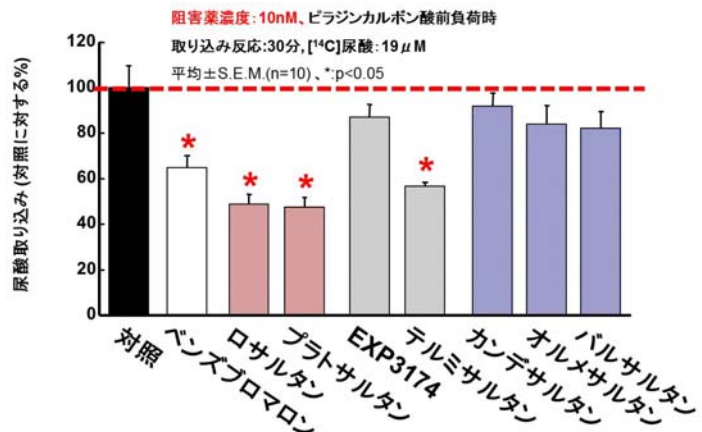


図2: URAT1を介した尿酸取り込みに対するARBsのCis-阻害作用

URAT1 はアニオン交換トランスポーターであり、細胞内の有機酸（乳酸やニコチン酸）と尿細管腔中の尿酸が交換輸送され、尿酸は細胞内移行する。ベンズブロマロンは URAT1 を阻害 (Cis-阻害) することにより尿酸の尿中排泄を促進する。一方、結核治療薬に使用されるピラジナミドは尿酸値を上昇させることが以前から知られているが、これはその代謝物ピラジンカルボン酸 (PZA) が尿細管上皮細胞内に移行し、URAT1 を介して尿酸と交換輸送されるために URAT1 を活性化し (Trans-刺激作用)、その結果として尿酸の再吸収を増大させる。したがって、ARB 間での尿酸値変動に対する作用についても、ベンズブロマロン型の URAT1 阻害 (Cis-阻害) と PZA 型の URAT1 活性化 (Trans-刺激作用) の対応があるのではないかと仮定した検討を行った。

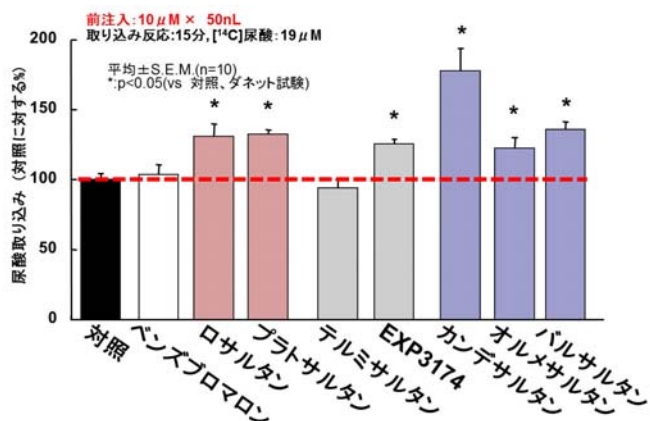


図3: 卵母細胞に発現させたURAT1を介した尿酸取り込みに対する種々のARBsのTrans-作用

URAT1 機能評価系としてアフリカツメガエル卵母細胞を用いた。URAT1 遺伝子を元に合成した cRNA を注入した卵母細胞を培養し、URAT1 を発現させた。まず、Cis-阻害について検討するために、URAT1 を介した $[^{14}\text{C}]$ 尿酸の取り込みを、取り込みメディウム中に ARB を添加して測定した。その結果、ロサルタン、プラトサルタン、テルミ

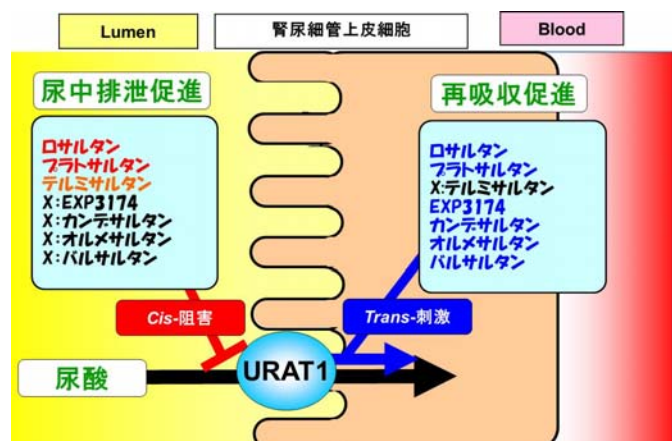


図4: 尿細管上皮細胞URAT1に対するARBs作用の多様性と尿酸再吸収への影響

サルタン存在下では取り込み量は低下した(図2)。一方、カンデサルタンなど尿酸値低下作用を有さないARBによっては有意な変化はなかった。

次に、PZA型のTrans-刺激作用について検討を行った。あらかじめ各ARBを卵母細胞に注入し、その後 ^{14}C 尿酸の取り込みを測定した。その結果、テルミサルタンを除くいずれのARBにおいても取り込み促進作用が観測された(図3)。

以上の結果より、ARBのURAT1に対する作用は、Cis-阻害ならびにTrans-刺激作用のいずれも可能性があるが、それはARB間で差があることが示された。本結果をまとめると図4のようになる。血清尿酸値を低下させるARBは少なくともURAT1に対してCis-阻害作用を有しており、尿酸値を上昇させるARBはURAT1をTrans-刺激する作用を有することが考えられた。しかし、実際の作用は作用部位での各ARBの濃度、すなわち薬物動態特性に左右される。表2には各ARBのURAT1に対する阻害定数、臨床投与量での血漿中タンパク非結合形濃度、および動物試験結果も含めた情報から推定される腎組織中濃度を示す。Cis-阻害作用の推定には血漿中非結合形濃度を、Trans-

刺激作用は腎組織中濃度を元に考えた(図5)。その結果、ロサルタンやプラトサルタンは臨床投与量で十分にCis-阻害濃度に達すること、ならびにTrans-刺激作用も発揮することが示唆された(表2)。一方、カンデサルタン、オルメサルタン、およびバルサルタンはTrans-刺激作用を有することが示された。ロサルタンとプラトサルタンに

については両作用が見られるが、臨床的濃度でのバランスから阻害作用が優先され、尿酸値が低下するものと考えられる。以上、URAT1に対するCis-阻害ならびにTrans-刺激作用の有無および薬物動態特性から、ARBによる多様な尿酸値変動はURAT1を介する尿酸再吸収活性への影響で説明できることが示された。

4：サリチル酸の血清尿酸値に対するパラドキシカルな作用機構

サリチル酸のパラドキシカルな血清尿酸値への影響も知られている(図9左図)。それは投与量によって尿酸値への影響が異なるというもので、サリチル酸の低投与量時には尿酸値が上昇し、高投

表2: URAT1による尿酸輸送に対するARBの影響と動態特性

ARBs	Unbound Plasma Cmax (μM)	Cis-Inhibition (K_i ; μM)	Estimated conc. in kidney (μM)	Trans-Stimulation (0.43 μM)
LOS	0.0078	0.0077	0.180	31.1 % ↑
Losartan	EXP	No Effect	0.620	25.5 % ↑
Pratosartan	0.0468	0.0067	2.971	32.1 % ↑
Telmisartan	~ 0.0071	0.0182	(0.426)	No Effect
Candesartan	~ 0.0013	No Effect	0.075	77.7 % ↑
Olmesartan	0.023	No Effect	(1.400)	22.6 % ↑
Valsartan	0.325	No Effect	(3.900)	35.7 % ↑

(Assuming the K_p values 0.6)

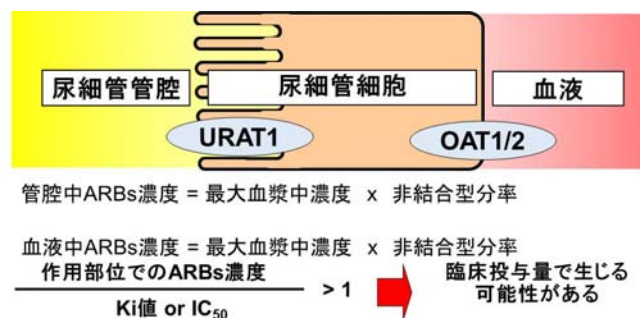


図5: 臨床投与量におけるARBs濃度の推定

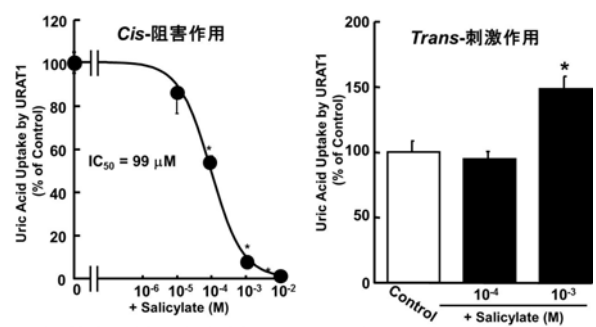


図6: サリチル酸のURAT1を介する尿酸輸送に対するサリチル酸のCis-阻害とTrans-刺激作用

与量時には低下する。そこで、サリチル酸についても ARB と同様な URAT1 への作用の可能性を仮定した。即ち、サリチル酸低投与量時には Trans-刺激作用が、高投与量時には Cis-阻害が優先し、投与量依存的な尿酸値変動が生じるという仮説である。その結果を図 6 に示すが、サリチル酸は両作用とも有することが示された。しかし、本結果からは投与量との関連を明確にはできていない。

図 1 に示すように、実際の尿酸の再吸収は URAT1 を介した管腔中から上皮細胞内への管腔側膜透過と上皮細胞内から血中への血液側膜透過の二段階の膜透過を含むが、血液側膜透過には GLUT9-isoform 1 が尿酸輸送に関わっている。すなわち、再吸収過程への影響による尿酸値変動は、URAT1 のみならず、GLUT9-isoform1 への作用も含めて考える方がより生理的である。そこで、新しい評価系として URAT1 と GLUT9-isoform1 の両トランスポーターを発現させたモデル細胞の作製を行った。図 7 には、MDCK 細胞に URAT1 と GLUT9-isoform1 遺伝子を同時に導入し、生成した各トランスポータータンパク質の発現を免疫染色によって示す。URAT1 は管腔側膜に対応する Apical 側 (AP) に、

GLUT9-isoform1 は側底膜に対応する Basolateral 側 (BL) にそれぞれ発現が確認された。また、同時にヒト腎組織スライス上での両トランスポータータンパク質の発現を示す。両トランスポータータンパク質は同一の上皮細胞中に発現することが確認された。さらに、樹立した本細胞系が機能的にも適切かの確認を行った。その結果を図 8 に示す。両トランスポーターの同時発現細胞、URAT1

あるいは GLUT9-isoform1 いずれかを一方を発現した細胞、およびいずれも発現していない MOCK 細胞における尿酸の再吸収方向輸送速度を比較したものである。両トランスポーターを発現させた場合のみ高い再吸収方向 (AP 側から BL 側) 輸送が観測された。以上より、本モデルを用いて尿酸の再吸収過程を評価できると判断された。そこで本モデルを用いて、尿酸の再吸収方向輸送

図7: Immunolocalization of URAT1 and GLUT9-iso1 in Double-Transfected MDCK Cells

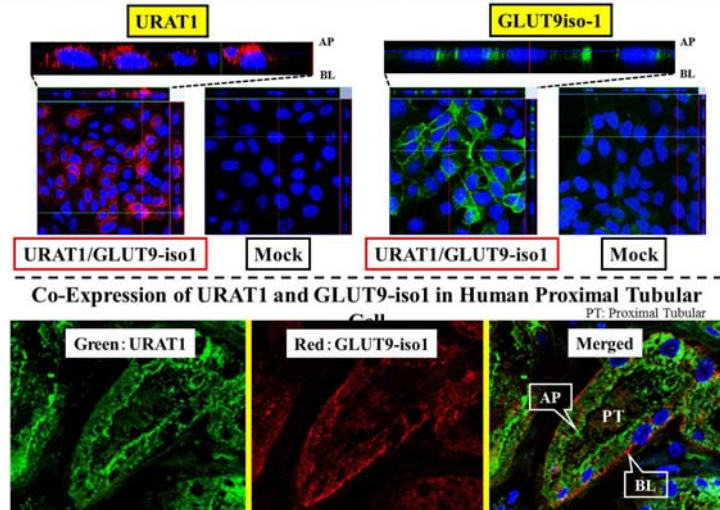
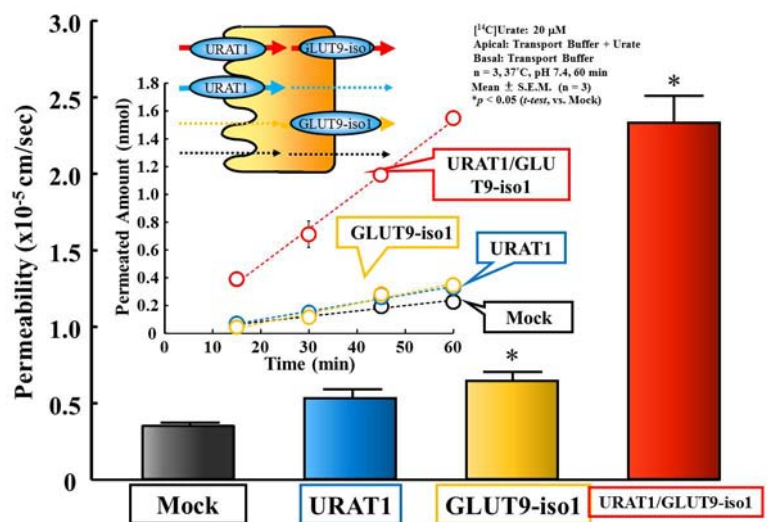
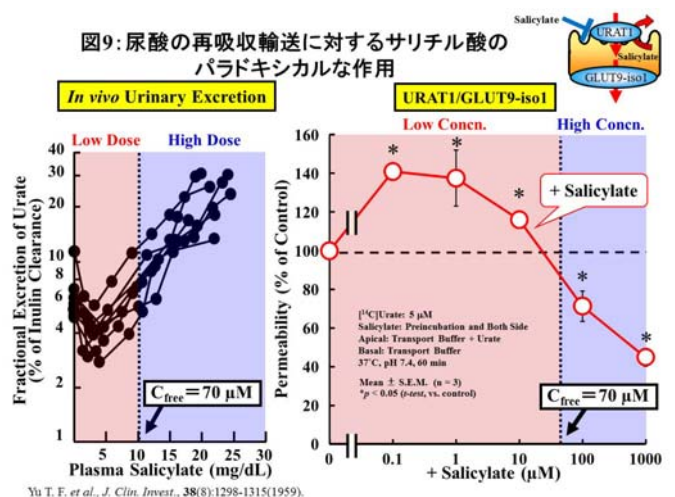


図8: URAT1/GLUT9-iso1細胞における尿酸の経細胞輸送



に対するサリチル酸の作用を調べた。尿酸の再吸収方向の輸送をサリチル酸の濃度を変化させて測定した結果を図9の右図に示す。尿酸の再吸収方向輸送は低濃度のサリチル酸（70 μ M以下）では増大し、高濃度サリチル酸存在下では低下した。70 μ Mはほぼ臨床的な低投与量・高投与量で尿酸値の上昇・低下が反転する濃度であり（図9）、本モデルで得られた濃度と対応するものと判断された。したがって、サリチル酸の血清尿酸値に対するパラドキシカルな作用は、URAT1 上での Cis-阻害および Trans-刺激作用が濃度依存的に生じることで説明できるものと考えられる。



5 : SGLT2 阻害薬による血清尿酸値変動機構

糖尿病治療薬の作用機構は多様であるが、2014 年に本国において上市された新しいタイプの血糖降下作用薬は、グルコースの腎臓での再吸収を抑制することで作用を発揮する。グルコースの尿細管再吸収は近位尿細管上部に発現する SGLT2 トランスポーターと、下部に発現する SGLT1 トランスポーターによって生じる。SGLT2 は SGLT1 に比べ低親和性であるが高い輸送活性を有しており、主たる再吸収機構として働く。そこで開発されたのが SGLT2 選択的阻害薬である。複数の SGLT2 阻害薬が上市されているが、

図10：尿酸値低下作用が報告されているSGLT2阻害薬

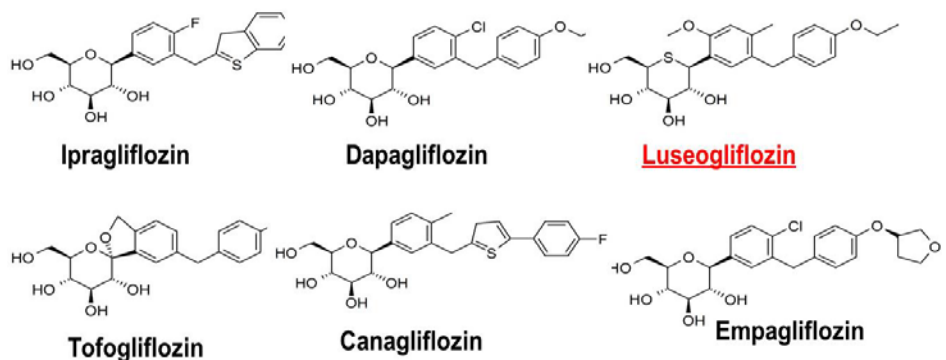
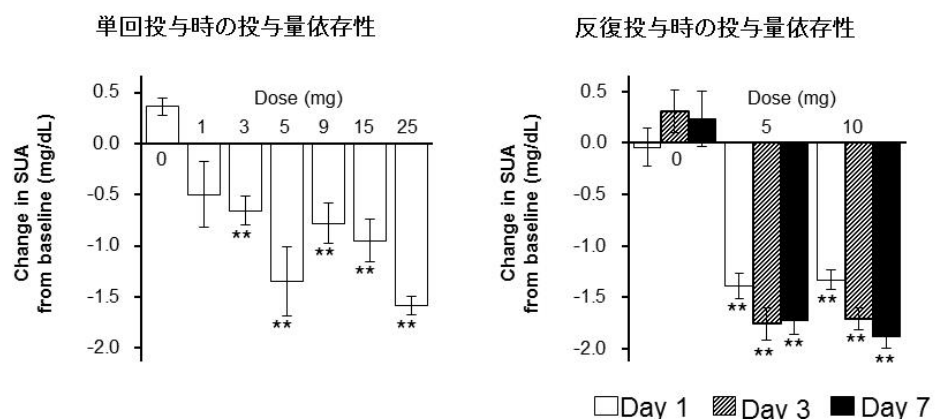


図11：ヒトにおけるルセオグリフロジン投与時の尿酸値低下

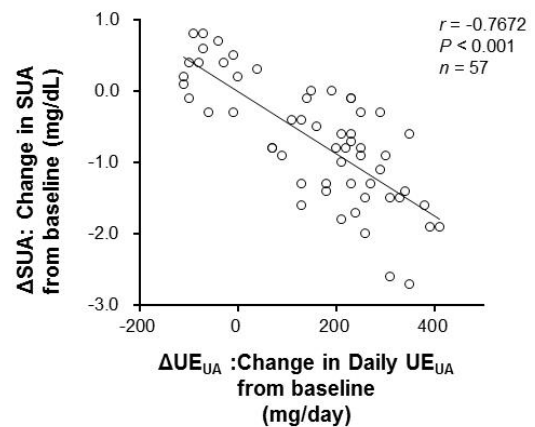
図 11 はルセオグリフロジンの臨床試験において観測された尿酸値の低下を示す。健康成人にルセオグリフロジンを単回投与時の尿酸値



について検討した。

の変動を、1 mg ～ 25 mg の投与量範囲内で測定した結果を左に、5 mg あるいは 10 mg の反復投与時の 1, 3, 7 日目に測定した結果を右に示す。投与量依存的な尿酸値低下作用が見られるが、およそ 5 mg 投与量以上でその作用は最大に達していると考えられる。このような尿酸値低下作用機構については、尿酸の生合成低下か排泄促進か、あるいはいずれもかの可能性がある。そこで次のような尿酸値変動と尿酸の尿中排泄量変化について解析を行った。図 12 はルセオグリフロジン投与時の血清尿酸値の変化量

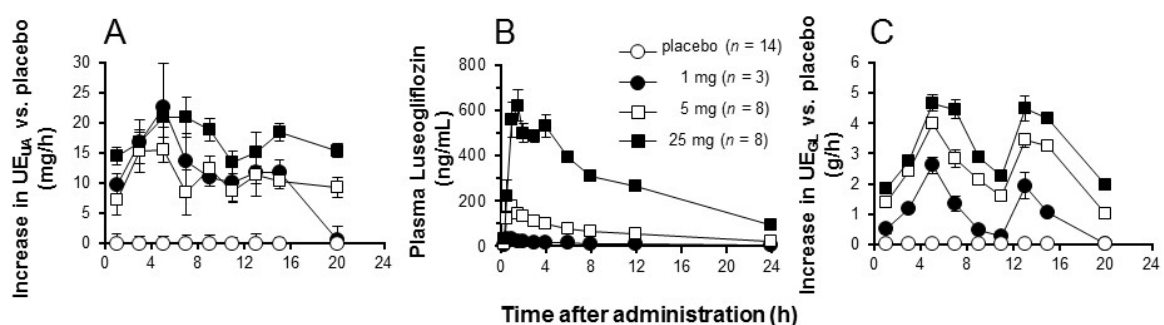
図12: ルセオグリフロジン投与後の血清尿酸値と尿中尿酸排泄量の変化量の相関



と尿酸の尿中排泄量の変化量の相関性を示す。尿酸値の低下と尿中尿酸排泄量の増大の間には有意な相関があり、血清尿酸値の低下は尿中排泄促進によって説明できるものと考えられた。すなわち、ARB 等の場合と同様にルセオグリフロジンによる URAT1 を介した尿酸の再吸収阻害が考えられた。しかし、URAT1 に対するルセオグリフロジンの Cis-阻害作用は観測されなかった。その他にも図 1 に示す尿酸の再吸収に働く可能性あるトランスポーターに対する Cis-阻害作用の有無を検討したが、いずれも阻害作用を示さなかった。したがって、SGLT2 阻害薬は尿酸再吸収への直接的な阻害作用では説明できないものと考えられた。

図 13 は、ルセオグリフロジン投与時の尿中尿酸排泄量変化の時間推移 (A)、血漿中ルセオグリフロジン濃度の時間推移 (B)、および尿中へのグルコースの排泄量変化の時間推移 (C) を示す。

図13: ルセオグリフロジン1,5,25mg単回投与時の尿酸の尿中排泄量(A)、ルセオグリフロジンの血漿中濃度(B)、及び尿中グルコース排泄量(C)の時間推移



投与量の増大に対応してルセオグリフロジンの血漿中濃度は増大したが、尿酸やグルコースの尿中排泄量の変化と投与量との対応は明確ではなかった。これに対して、尿酸 (A) とグルコース (C) の尿中排泄量の時間推移のパターンは、24 時間の範囲で二峰性を示すなど類似性を示した。以上の結果、ならびに尿酸値低下が SGLT2 阻害薬全体に共通していることから、尿酸排泄促進作用はルセオグリフロジンの直接作用ではなく、その薬理効果として生じた尿糖の変化に起因するものと考えた。SGLT2 阻害薬投与時には近位尿細管上部でのグルコース再吸収が抑制されるため、

近位尿細管下部では管腔内尿中グルコース濃度が上昇する。したがって、上皮細胞管腔側膜に発現するトランスポーターを介して、近位尿細管上皮細胞内の尿酸と管腔内のグルコースが交換輸送され、尿酸の分泌が促進されるために再吸収が低下し、その結果血清尿酸値が低下するという仮説を立てた。トランスポーターとしてグルコーストランスポーターファミリーとして同定され、尿酸輸送活性を有しており、しかも管腔側細胞膜に発現する GLUT9-isoform2 を考えた。前術のように GLUT9-isoform1 は血管側細胞膜に発現し、尿酸とグルコースの交換輸送活性を有することが報告されている。しかし、GLUT9-isoform2 に関しては、管腔側細胞膜に発現することは知られていたが、尿酸との交換輸送活性については明確ではなかった。そこで、GLUT9-isoform2 に着目し、尿酸との交換輸送の可能性について検討を行った。

その結果、図 14 に示すように、細胞内から細胞外への¹⁴C尿酸の排出輸送は、細胞外グルコース高濃度 (10

mM) によって促進されることが示された (A)。なお、管腔中濃度として 10 mM は SGLT2 阻害薬併用時に到達する濃度と推定される。ベンズブロマロンは低親和性であるが GLUT9 を阻害するが、図 14-B で示すように細胞外排出輸送は BB によって阻害され、本輸送は GLUT9 を介することが裏付けられた (B)。さらに、細胞内にグルコースを封入した場合には尿酸取り込みが促進される結果も得られ (C)、グルコースと尿酸は GLUT9-isoform2 を介して交換輸送されることが明確になった。

本交換輸送はグルコース濃度 5 mM では観測されなかったことから (A)、尿糖がかなり上昇するような SGLT2 阻害作用が生じた時に観測されやすくなるものと考えられる。

以上の結果より、SGLT2 に共通して観測される血清尿酸値低下作用については、少なくともその一部は、薬効として生じる尿細管腔中で上昇するグルコースが、管腔側膜で細胞内尿酸と管腔中高濃度のグルコースとの交換輸送活性を有する GLUT9-isoform2 あるいは同様の活性を有するトランス

図14: アフリカツメガエル卵母細胞に発現させたGLUT9-isoform2による¹⁴C尿酸取り込み・排出に対するグルコースの作用

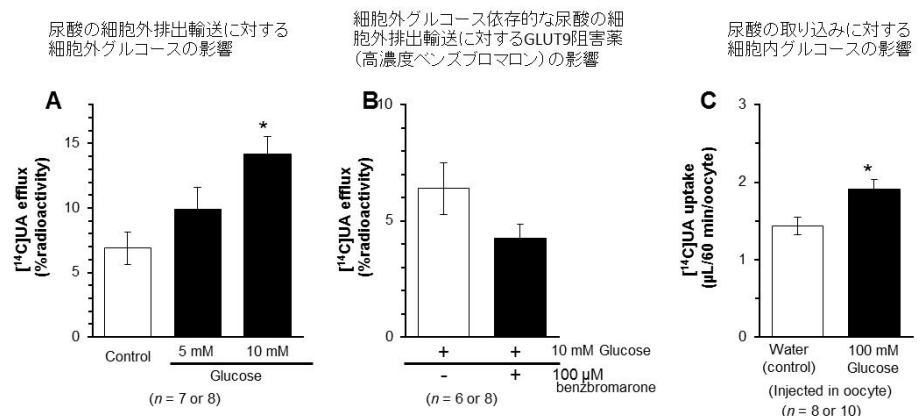
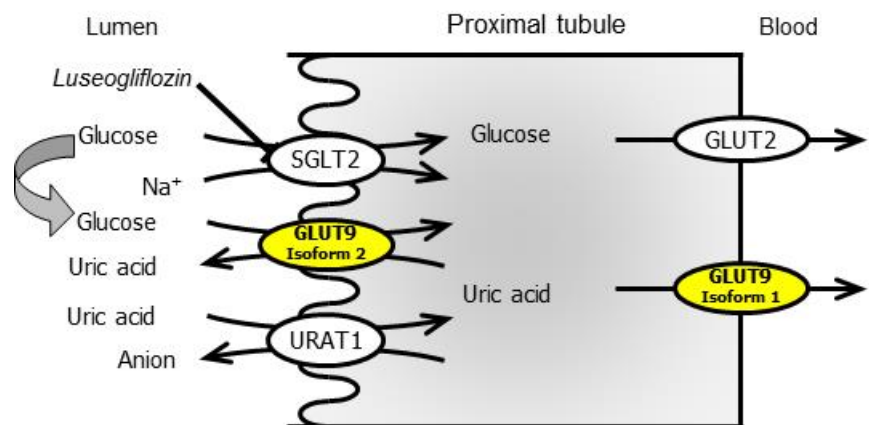


図15: GLUT9-isoform2を介した尿酸/グルコースの交換輸送



ポーターを介した尿酸の分泌促進によって説明できることが示された（図 15）。

6：まとめ

本研究では、医薬品の中で見られる尿酸値変動作用機構として特に尿酸調節に働くトランスポーターへの作用を中心に解析を行った。尿酸は抗酸化作用とともに酸化ストレスを生じることでも知られており、高尿酸血症は痛風発作を生じなくても回避すべきであるとともに、適度な尿酸値を維持することが必要である。慢性疾患の治療に用いられる医薬品がその副作用として尿酸値を変動させることは、場合によっては利点になるが、尿酸値を上昇させることは避ける必要がある。特に尿酸値が高い患者に対しては、主作用のみならず尿酸値への作用も考慮した医薬品の選択も望まれる。本成果は尿酸値コントロールが必要な場合の動向薬の選択に対する有用な知見を与えるとともに、新しい尿酸排泄促進薬の創出に有用な知見を与えるものである。

7：謝辞

本研究は、中西猛夫准教授および小森久和博士をはじめ、前田智司博士（現、日本薬科大学）、岩永崇博士（現、富士薬品）、佐藤正延博士（現、PMDA）、Yang Lu 博士（現、米国ノースカロライナ大学）、Yan Li 博士（現、ニュージーランド工科大学）、細見篤史修士（現、協和発酵キリン）、大箭考平修士（現、キョーリン製薬）等の努力によって得られたものであり、深く感謝します。また、研究の進展に有用な研究助成をいただきました公益財団法人蓬庵社にお礼申し上げます。

8：参考論文

- ((1),(2)は本文中で引用。(3)以降は本研究関連論文の列举であり、本文中に引用はありません。)
- (1) 高尿酸血症・痛風の治療ガイドライン第二版、日本痛風・核酸代謝学会ガイドライン改訂委員会編集、メディカルレビュー社、2010 年。
 - (2) Enomoto A., Kimura H., Chairoungdua A., Shigeta Y., Jutabha P., Cha S.H., Hosoyamada M., Takeda M., Sekine T., Igarashi T., Matsuo H., Kikuchi Y., Oda T., Ichida K., Hosoya T., Shimokata K., Niwa T., Kanai Y., Endou H. Molecular identification of a renal urate anion exchanger that regulates blood urate levels. **Nature**, **417**(6887):447-452 (2002).
 - (3) Iwanaga T., Sato M., Maeda T., Ogihara T., and Tamai, I. Concentration-dependent mode of interaction of angiotensin II receptor blockers with uric acid transporter URAT1. **J Pharmacol Exp Ther**, **320**: 211-217 (2007).
 - (4) Sato M., Iwanaga T., Mamada H., Ogihara T., Maeda T., Tamai I. Involvement of uric acid transporters in alteration of serum uric acid level by angiotensin II receptor blockers. **Pharm Res**, **25**: 639-646 (2008).
 - (5) Li Y., Sato M., Yanagisawa Y., Mamada H., Fukushima A., Mikami K., Shirasaka Y., Tamai I. Effects of angiotensin II receptor blockers on renal handling of uric acid in rats. **Drug Metab Pharmacokin**, **23**, 263-270 (2008).
 - (6) Sato M., Mamada H., Anzai N., Shirasaka Y., Nakanishi T., Tamai I. Renal secretion of uric acid by organic anion transporter 2 (OAT2/SLC22A7), **Biol Pharm Bull**, **33**: 498-503 (2010).

- (7) Sato M., Wakayama T., Mamada H., Shirasaka Y., Nakanishi T., Tamai I. Identification and functional characterization of uric acid transporter Urat1 (Slc22a12) in rats. **Biochim Biophys Acta**, **1808**: 1441-1447 (2011).
- (8) Yashio K., Katayama Y., Takashima T., Ishiguro N., Doi H., Suzuki M., Wada Y., Tamai I., Watanabe Y. Synthesis of [¹¹C]uric acid, using [¹¹C]phosgene, as a possible biomarker in PET imaging for diagnosis of gout. **Bioorg Med Chem Lett.**, **22**:115-119 (2012).
- (9) Hosomi A., Nakanishi T., Fujita T., Tamai I. Extra-renal elimination of uric acid via intestinal efflux transporter BCRP/ABCG2. **PLoS One**, **7**(2):e30456 (2012).
- (1 0) Nakanishi T, Ohya K., Shimada S, Anzai N, Tamai I. Functional cooperation of URAT1 (SLC22A12) and URATv1 (SLC2A9) in renal reabsorption of urate. **Nephrol Dial Transplant**, **28**: 603-611 (2013).
- (1 1) Lu Y, Nakanishi T, Tamai I. Functional cooperation of SMCTs and URAT1 for renal reabsorption transport of urate. **Drug Metab Pharmacokinet.**, **28**: 603-611 (2013).
- (1 2) Lu Y, Nakanishi T, Tamai I. How does whisky lower serum urate level? **Phytother Res.**, **28**: 788-790 (2014).
- (1 3) Chino Y, Samukawa Y, Sakai S, Nakai Y, Yamaguchi JI, Nakanishi T, Tamai I. SGLT2 inhibitor lowers serum uric acid through alteration of uric acid transport activity in renal tubule by increased glycosuria. **Biopharm Drug Dispos.** **35**: 391-404 (2014).
- (1 4) Lu Y, Nakanishi T, Hosomi A, Komori H, Tamai I. In-vitro evidence of enhanced breast cancer resistance protein-mediated intestinal urate secretion by uremic toxins in Caco-2 cells. **J Pharm Pharmacol.** **67**:170-177 (2015).

新規概念に基づくエナント選択的触媒反応の創出と応用

大阪大学産業科学研究所

笹井宏明

はじめに

少量のキラル源から原理的には大量の光学活性体を供給可能な不斉触媒反応は、キラルテクノロジーの中核技術としてその位置を確立し、多くの不斉触媒が開発されている。なかでも触媒的不斉還元反応や触媒的不斉エポキシ化などの酸化反応は、キラル医薬品の供給手段として工業的にも利用されている。近年、これらの官能基変換反応に加えて、光学活性体の分子骨格を構築可能な触媒的不斉炭素-炭素結合形成反応が注目されている。我々の研究室では、既存の反応の不斉化ではなく、反応活性化のメカニズムが新しいエナント選択的触媒反応の創出を目指して検討を行っている。本発表では、我々の研究室で創製したキラル配位子スピロビスイソオキサゾリン配位子 (SPRIX) を用いるエナント選択的 Pd(II)/Pd(IV)触媒反応、反応中間体として生じる Pd エノラートが求核剤と反応する新規な Pd-エノラートの極性転換反応、二核バナジウム触媒を活用する多環式フェノール類の酸化カップリング反応とヘリセン誘導体合成への展開ならびに、二重活性化機構で反応を促進する酸-塩基型有機分子触媒を活用するドミノ型反応について紹介する。

Pd-SPRIX 触媒によって促進される新規反応¹

SPRIX は、スピロ骨格を持つ上に、遷移金属に対する配位性官能基がイソオキサゾリンという特異なキラル配位子であり、酸性、塩基性および、酸化条件下において安定である。また、SPRIX では、剛直なスピロ骨格に支えられて、オキサゾリンやホスフィン配位子に比べると弱い配位力しか持たない、二つのイソオキサゾリン環が解離せずに二座配位子として働き、特徴的な反応促進効果を示す。Figure 1 に、SPRIX の構造と、Pd-SPRIX 錯体を触媒として進行する代表的な反応を示した²。これらの反応は、これまでに開発されてきた既存のキラル配位子では全く反応が進行しなかったり、ラセミ体の生成物が得られたりする反応である。 σ -ドナー性の低いイソオキサゾリン環を有する SPRIX では、Pd との錯体形成後も Pd 塩の Lewis 酸性を保っており、オレフィン等の活性化に有効であったためと解釈できる。なかでも反応 d) は、IV 価の Pd が反応に寄与する初めてのエナント選択的 Pd(II)/Pd(IV)触媒反応であり、 $\text{PhI}(\text{OAc})_2$ のような酸化剤の存在下、目的の二環式ラクトンが高収率かつ高エナント選択的に得られる^{2d}。最近では、ホモアリルアルコールを出発物質として、アセトキシル化を伴う環化反応により、3-オキシ-テトラヒドロフラン誘導体を得られることも見いだした^{2f}。

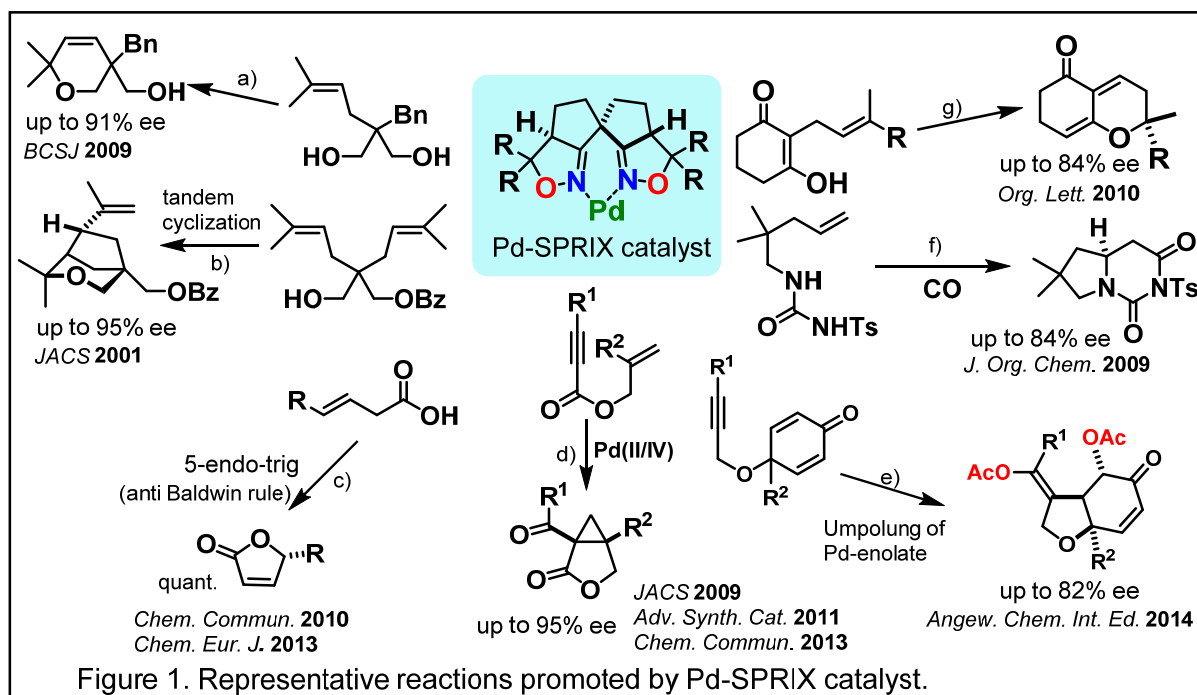
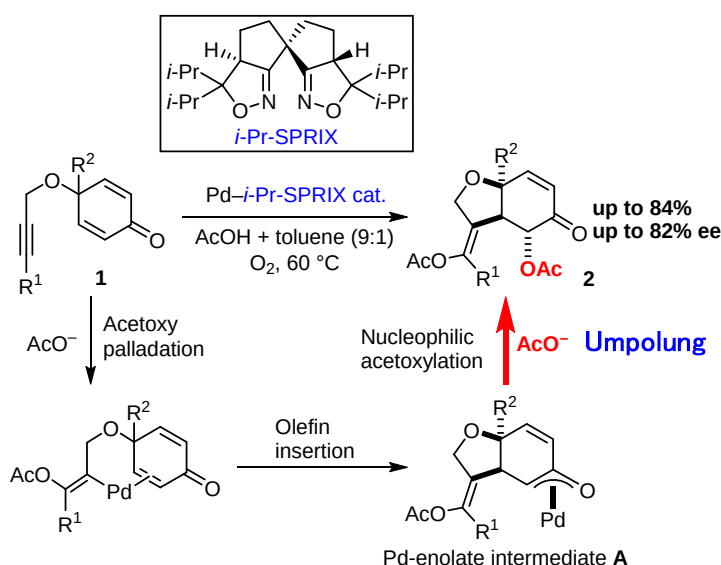


Figure 1 中の反応 e)では、反応中間体として生じるパラジウムエノラート錯体が、求核種であるアセトキシ基と反応する^{2g}。パラジウムエノラートは、カルボニル基 α 位アリール化のような実用性の高い変換反応における鍵中間体として含まれるため、遷移金属エノラート錯体の中で最も系統的に研究されている。しかしながら、他の金属エノラートと同様に求電子剤としか反応せず、パラジウムエノラートに対する求核的な反応はこれまで達成されていなかった。一方、パラジウム錯体を触媒とする反応は、アセトアルデヒドの生産だけではなく、医薬品や液晶材料など現代生活を営む上で必要なファインケミカルズの製造にも広く利用されている。

2009 年に報告されたパラジウムエノラート中間体経由の触媒反応³を基にして、SPRIX を用いて条件を精査した結果、パラジウムエノラートに求核種が攻撃する「極性転換反応」の開発に世界で初めて成功した。すなわち、Pd-*i*-Pr-SPRIX 触媒とアルキニルシクロヘキサジエノン基質 **1** を、酸素雰囲気下にて酢酸とトルエンの 9:1 混合溶媒中 60 °C で撹拌したところ、アセトキシパラデーシオンとオレフィン挿入によ

Figure 2. Umpolung reaction of a Pd-enolate



り生成したパラジウムエノラート中間体 **A** にアセテートアニオンが反応し、生物活性化合物の原料として有用な α -アセトキシベンゾフラノン誘導体 **2** が高収率で得られることを見出した (Figure 2)。光学的に純粋な SPRIX を用いるとエナンチオ選択的合成も可能であり、生成物 **2** が最高 82% ee で得られた。本反応は、現代の有機合成化学に多大な貢献を果たしている「辻-Trost 反応」に類した変換反応であるため今後の発展が期待できる。

二核バナジウム触媒によって促進される多核フェノール類の酸化カップリング反応

我々は 2-ナフトール誘導体の不斉酸化的カップリング反応において、優れたレドックス触媒作用を示す 5 価の二核バナジウム錯体 (R_a,S,S)-**3** の開発に成功している (Figure 3)⁴。本二核バナジウム錯体の (R)-BINOL 由来の軸性キラルティと (S)-アミノ酸由来の中心性キラルティのマッチングにより、本二核バナジウム錯体 **3** が二分子の 2-ナフトールを配向制御しつつ同時に活性化することが明らかとなっている^{4a}。また、(R_a,S,S)-**3** はインドールまたは 2-ナフトールとイミンとの不斉ヘテロカップリング反応において、酸触媒として機能することも見いだしている⁴。そこで、反応基質に多環式フェノールである 2-ヒドロキシベンゾ[*c*]フェナントレン(**4a**)を用いれば、バナジウム錯体のレドックス/酸触媒作用^{4c}により不斉酸化的カップリングと

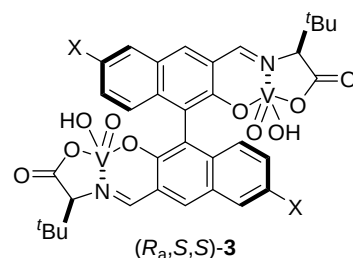
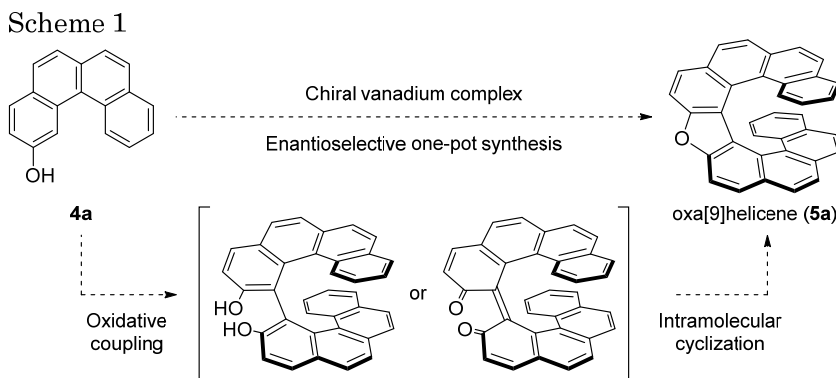


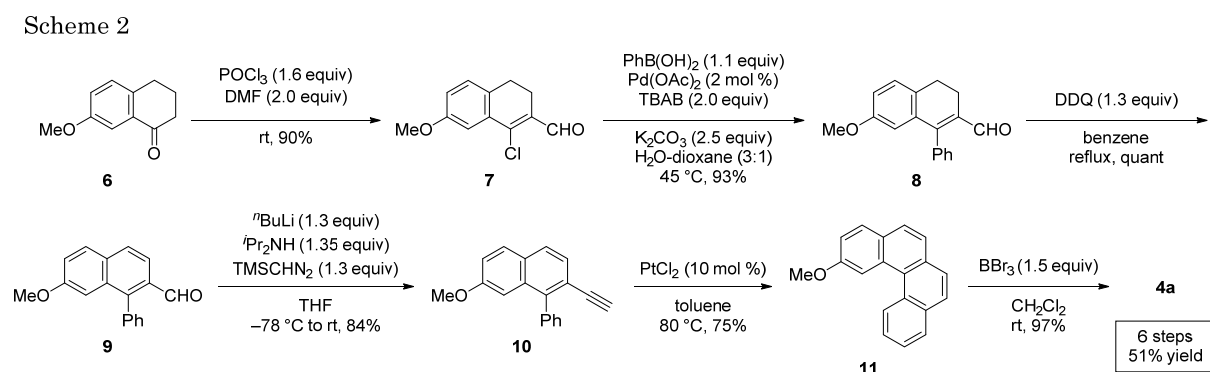
Figure 3

分子内脱水環化の連続反応が進行して、オキサ[9]ヘリセン(**5a**)を高収率かつ高エナンチオ選択的に合成できると考え検討を行った (Scheme 1)。



まず、原料となる **4a**

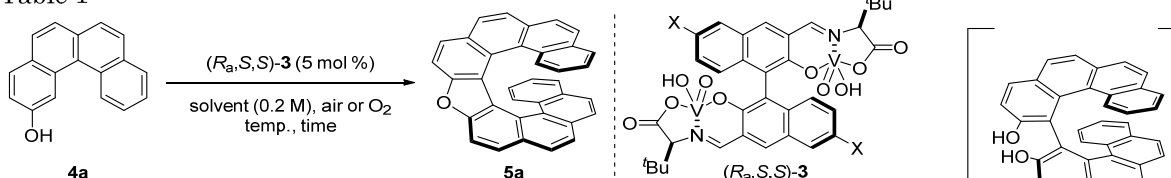
を Scheme 2 に示す経路で合成した。市販の 7-メトキシテトラロン(**6**)に対して、ハロホルミル化反応を行い、得られた **7** とフェニルボロン酸との鈴木-宮浦カップリング



反応により **8** を得た。DDQ を用いて **8** を酸化してナフタレン誘導体 **9** へと導き、LDA とトリメチルシリルジアゾメタンを作用させアルキン体 **10** とした。アルキン体 **10** を塩化白金(II)触媒存在下で環化させた後、脱メチル化することにより、目的の **4a** を全 6 工程、総収率 51% で合成した。本合成法において、**7** のカップリング反応で様々なアリールボロン酸を選択することで、また **11** の位置選択的な修飾によって、様々な置換基を有する 2-ヒドロキシベンゾ[*c*]フェナントレン誘導体 **4b-4i** (Scheme 3) を合成した。

まず、反応基質 **4a** に対して触媒量の (*R_a*,*S,S*)-**3a** を用い反応条件の検討を行った (Table 1)。クロロホルム中、5 mol % の (*R_a*,*S,S*)-**3a** 存在下、空気中の酸素を酸化剤とし、基質 **4a** を 72 時間反応させたところ、未反応の **4a** の回収とともに、連続反応が進行し生成したヘリセン **5a** が 22% 収率、34% ee で得られた (entry 1)。この際、反応中間体として考えられるジオール体、及び、キノン体の生成は確認されなかった。反応溶媒、反応温度、共酸化剤、及び、反応時間を検討した結果、四塩化炭素中、60 °C、酸素雰囲気下、72 時間にて反応を行うことで、ヘリセン **5a** が 81% 収率、58% ee で得られた (entry 6)。更なる化学収率とエナンチオ選択性の向上を目指して、様々な二核バナジウム錯体を調製した。錯体のビナフチル骨格の 6,6' 位にブロモ基を導入した (*R_a*,*S,S*)-**3b** を用いた場合に、ヘリセン **5a** が 92% 収率で得られたものの、顕著な不斉収率の改善は見られなかった。

Table 1^a

							
entry	(<i>R_a</i> , <i>S,S</i>)- 3	solvent	air or O ₂	temp. (°C)	time (h)	yield (%)	ee (%)
1	3a (X = H)	CHCl ₃	air	10	72	22	34
2		CHCl ₃	air	60	48	35	50
3		toluene	air	60	48	44	43
4		CCl ₄	air	60	48	45	58
5		CCl ₄	O ₂	60	48	73	58
6		CCl ₄	O ₂	60	72	81	58
7	3b (X = Br)	CCl ₄	O ₂	60	72	92	60

^aYields of products were estimated by ¹H NMR.

次にエナンチオ選択性の更なる向上を目指して、バナジウム錯体の検討を行った (Table 2)。その結果、本反応においては単核バナジウム錯体も有効であることがわかった。実際、ビナフチル骨格を有する単核バナジウム錯体 (*R_a*,*S*)-**14** を用いた場合、ヘリセン **5a** が 87% 収率、58% ee で得られ、二核バナジウム錯体を用いた際と同程度の結果 (Table 1, entries 6 and 7) が得られた。種々の単核バナジウム錯体 **14-22** を調製して反応条件を検討した結果、錯体のビナフチル骨格の 3' 位に *m*-ターフェニル基を導入した単核バナジウム錯体 (*R_a*,*S*)-**22** を用い、四塩化炭素中、50 °C、酸素雰囲気下、48 時間にて反応を行うことで、95% 収率、78% ee と比較的高いエナンチオ選択性でヘリ

Table 2^a

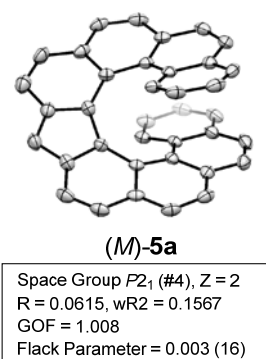
4a		Chiral vanadium complex (10 mol %)		5a	
		CCl ₄ (0.2 M), O ₂ 60 °C, 48 h			
	(S)-12 72%, 19% ee		(S)-13 61%, 14% ee		(R,S)-14 87%, 58% ee
	(R,S)-15 72%, 58% ee		(S,S)-14 91%, 41% ee		
	(R,S)-16 86%, 66% ee		(R,S)-17 95%, 75% ee		(R,S)-18 95%, 75% ee
	(R,S)-19 37%, 66% ee		(R,S)-20 98%, 66% ee		(R,S)-21 96%, 59% ee
	(R,S)-22 99%, 75% ee 95%, 78% ee ^b				

^aYields of products were estimated by ¹H NMR yield. ^b50 °C.

セン **5a** を得ることに成功した。

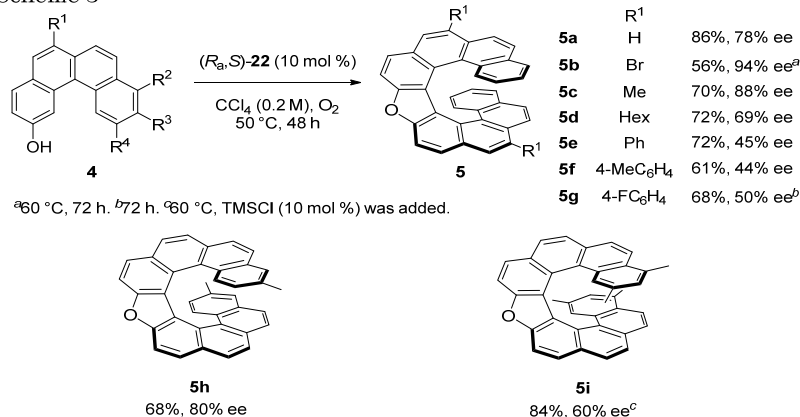
本触媒反応で得られる光学活性なオキサ[9]ヘリセン (**5a**) は一度の再結晶操作により容易に光学的に純粋なヘリセン **5a** へと導くことができた。すなわち、加熱した **5a** のヘキサン/ジクロロメタン混合溶液をゆっくりと冷却すると、ラセミ結晶が優先して析出し、光学的に純粋な **5a** が母液中から回収できた。この **5a** の比旋光度を測定した結果、 $[\alpha]_D^{19} = -2647$ (*c* 0.32, CHCl₃) とヘリセン特有の大きな値を示した。得られた **5a** の絶対配置を明らかにするため、メタノール/ジクロロメタン混合溶液中にて単結晶を成長させ、X 線構造解析を行った結果、本反応で得られる光学活性なヘリセン **5a** は、左巻き (*M*) のらせん構造を有していることがわかった (Figure 4)。

Figure 4



最適反応条件下、様々な基質一般性の検討を行った (Scheme 3)。反応基質 **4** の R¹ に電子求引性のプロモ基を持つ **4b** を用いた場合、反応の進行が遅いため 60 °C、72 時間にて反応を行った。結果、ヘリセン **5b** を 56% と収率は中程度ながら 94% ee と高いエナンチオ選択性で得ることができた。R¹ にアルキル基を持つ基質 **4c-4d** を用

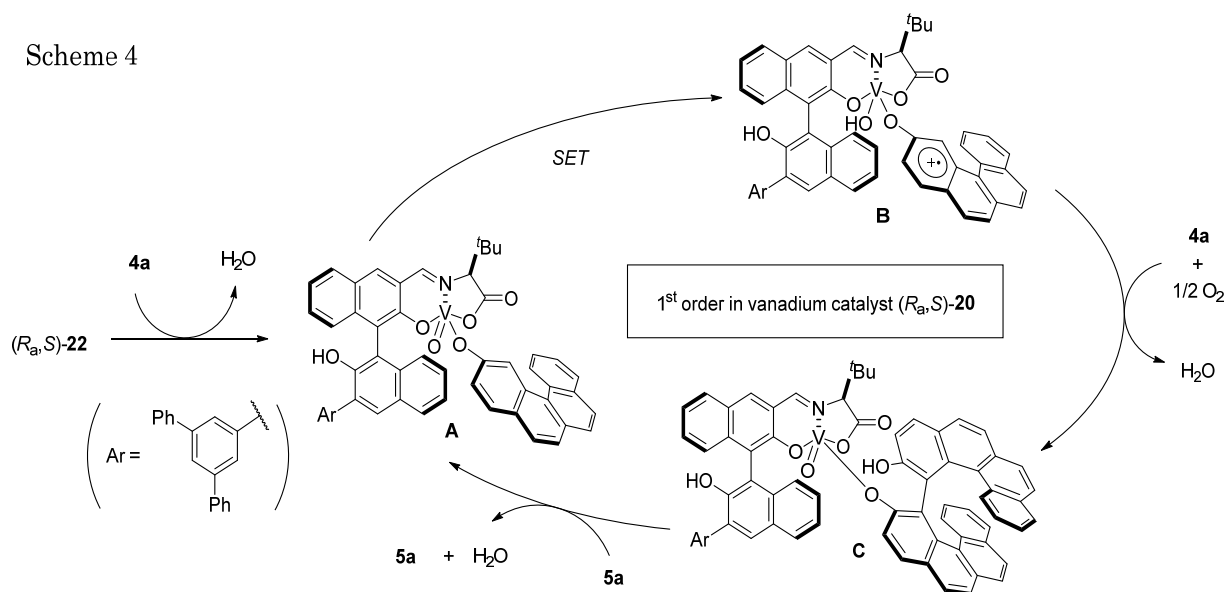
Scheme 3



いた場合、反応は良好に進行し、それぞれ **5c** が 88% ee、**5d** が 69% ee で得られた。 R^1 にアリール基を有する基質 **4e-4g** は収率 61~72% に対応するヘリセン **5e-5g** を与えたものの、若干の不斉収率の低下 (44-50% ee) が観測された。 R^3 にメチル基を持つ基質 **4h** からは、ヘリセン **5h** が 68% 収率、80% ee で得られた一方で、 R^2 と R^4 に二つのメチル基を持つ基質 **4i** の反応活性は低かった (**5i**: 22% 収率、37% ee)。Uang らはトリメチルシリルクロリド(TMSCl)を添加することでバナジウム錯体の触媒活性が向上することを報告している⁵。そこで、本系においても触媒量(10 mol %)の TMSCl を添加し、60 °C にて **2i** を 48 時間反応させたところ、収率とエナンチオ選択性が向上し、ヘリセン **3i** が 84% 収率、60% ee で得られた。

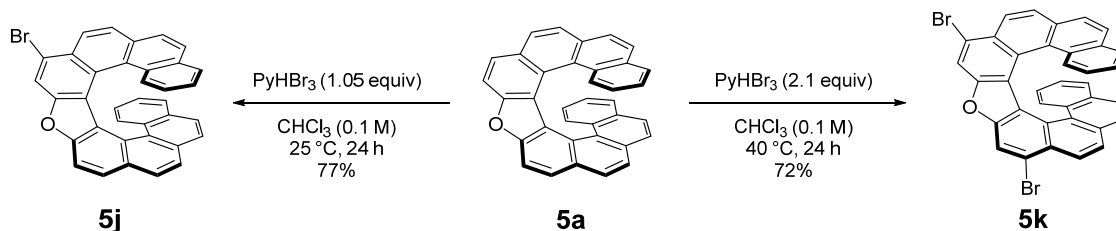
本反応の推定機構を Scheme 4 に示す。バナジウム(V)錯体(R_a,S)-**22** が **4a** と反応し、中間体 **A** を与える。次にバナジウム(V)への一電子移動によりラジカルカチオン種 **B** が生成する。続く **4a** の求核攻撃と分子状酸素によるバナジウム(IV)の再酸化により中間体 **C** が得られる。最後に脱水を伴う分子内環化反応が起こり、目的生成物 **5a** を与えるとともに中間体 **A** が再生する。本反応において、バナジウムの触媒量のみを 5、10、15 mol %とした際の各反応の初速度を算出し速度論的解析を行った。その結果、本触媒反応はバナジウム触媒に対して一次であることが明らかとなった (傾き 1.012、 $R^2 = 0.9934$)。これらの結果から、二分子のラジカルカチオン種 **B** 間のラジカル-ラジカルカップリング反応は、本系では起きていないと考えている。

Scheme 4



得られた **5a** の誘導体合成として、位置選択的なブロモ化反応を行った (Scheme 5)。ヘリセン **5a** にブロモ化剤として 1.05 当量のピリジニウムトリブロミド(PyHBr₃)を作用させるとモノブロモ体 **5j** が、2.1 当量の PyHBr₃ を作用させるとジブロモ体 **5k** がそれぞれ選択的に良好な収率で得られた。

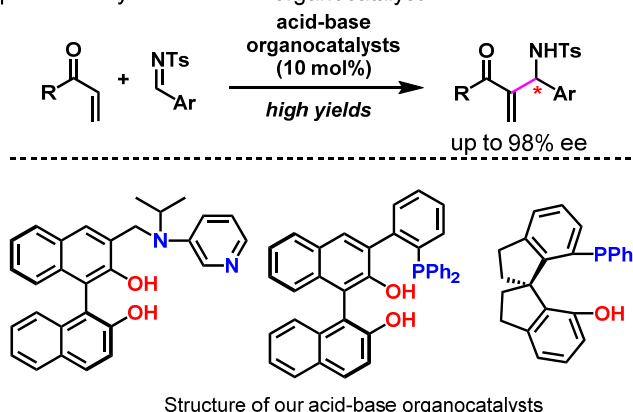
Scheme 5



酸-塩基型有機分子触媒を活用するドミノ型反応

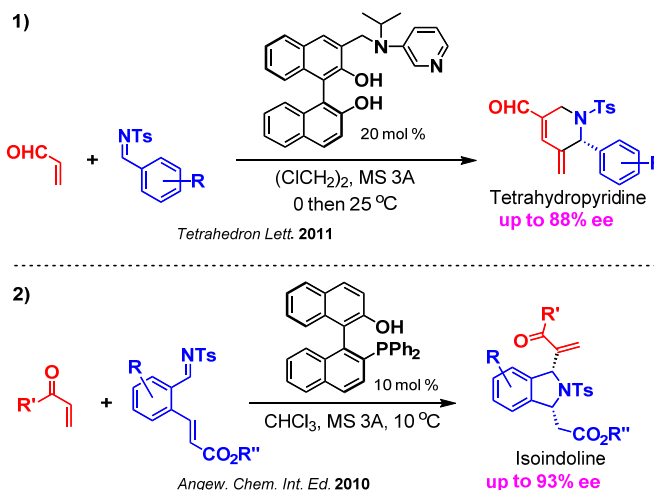
我々は、Figure 5に示すような酸-塩基型有機分子触媒を開発し、これらが α, β -不飽和カルボニル化合物とイミンとの形式的付加反応に相当するaza-Morita-Baylis-Hillman 反応 (aza-MBH反応) を収率よく高エナンチオ選択的に促進することを報告している⁶。また、Figure 6の式1のように、二分子のアクロレインとイミンとのドミノ反応により、テトラヒドロピリジン誘導体が最高88%eeで合成

Figure 5. Enantioselective aza-Morita-Baylis-Hillman reaction promoted by an acid-base organocatalyst



できることを見いだしている⁷。aza-MBH反応を基盤とするドミノ反応への展開としては、Figure 6の式2に示すように、分子内にMichael受容体として働く α, β -不飽和エステル部位を導入することにより、aza-MBH 反応の中間体からaza-Michael反応が進行したイソインドリン誘導体が効率よく得られることも報告している⁸。金属を含まない有機分子触媒反応は、触媒由来の重金属による生成物の汚染がなく、医薬品や電子材料プロセスへの応用

Figure 6. Enantioselective domino reactions based on organocatalyzed aza-MBH reaction



が期待されている。さらに、多段階反応を単一操作で可能とするドミノ反応では、中間体の分離・精製に必要な時間や試薬等を節減でき省エネルギー・省資源プロセスへの展開が可能となる。

有機分子触媒を用いて、ケトン由来のイミンであるケチミンを反応基質として用いるaza-MBH反応についても検討した。Figure 7に示すように、ケチミンを出発物質

とすることにより高度に官能基化された四置換炭素を有するキラル化合物の合成が可能となる半面、ケチミンでは、アルデヒド由来のイミンであるアルジミンに比べて、反応性が乏しい上にケチミンのsp²炭素に結合する置換基の区別が困難であり、ケチミンそのものが加水分解し

やすいという問題点を克服しなければならない。Figure 5に示した我々の研究室で開発した有機分子触媒や既存の有機分子触媒では満足のいく結果は得られなかったものの、種々の有機分子触媒を検討した結果、ブルゴーニュ大学のJugé教授グループとの共同研究により、リン原子上にキラリティーを持つ有機分子触媒を用いて効率よくケチミンのaza-MBH反応が進行することを見いだした⁹。得られる生成物は、 α, α -二置換の非天然型アミノ酸誘導体であり、生物活性についても興味をもたれる。

有機分子触媒を活用するケチミン類のエナンチオ選択的ドミノ反応として、入手容易な2,3-ブタジエン酸エステル（アレン酸エステル）を求核種とする[n+2]型環化反応についても検討している。Figure 9の上段が[2+2]型環化反応、下段が[4+2]型環化反応であり、

それぞれ最高92% eeおよび93% eeで収率よく生成物が得られている¹⁰。

Figure 7. Organocatalyzed reaction of ketimine with nucleophiles

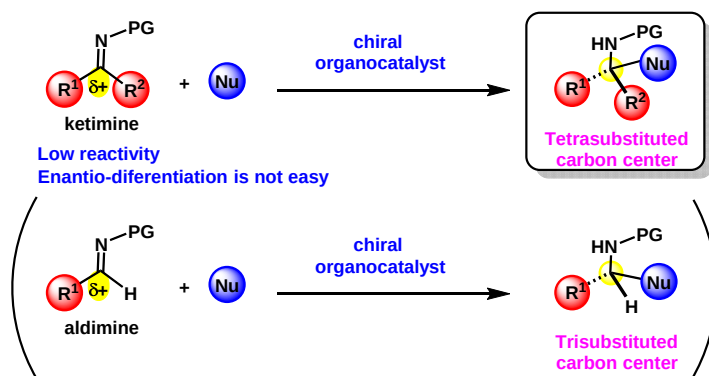


Figure 8. Enantioselective aza-MBH reaction of ketimine promoted by a chiral organocatalyst.

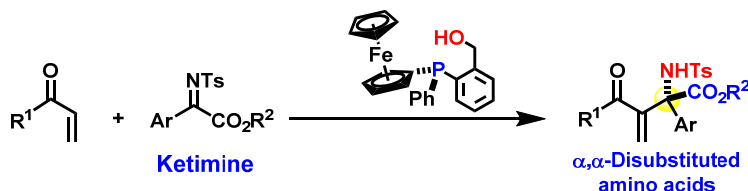
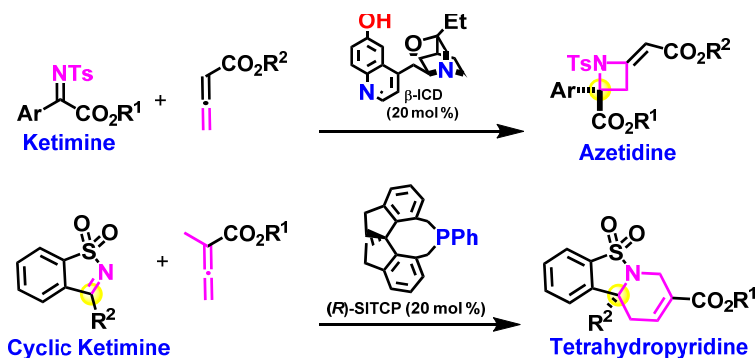


Figure 9. Enantioselective [2+2] and [4+2] annulation of a ketimine with an allenolate.



[3+2]型環化反応として、アレン酸エステル**7**と環状ジエノン**8**を基質とし、ジエノン**8**の非

対称化を伴うテトラヒドロベンゾフラノン**9**のエナンチオ選択的合成を検討した。テトラヒドロベンゾフラノン類は薬理活性物質の基本骨格として普遍的に見られ、これまでに数

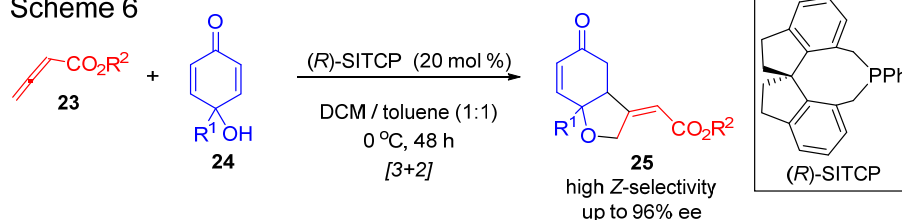
多くの合成法が開発されている (Scheme 6)。種々検討した結果、スピロ型ホスフィン系有機分子触媒 (*R*)-SITCPを用いると目的の環化体**9**が良好なエナンチオ選択性で*Z* 選択的に合成できることを見出した。本反応では、まず、触媒のルイス塩基部位がアレン酸エステル**23**のβ位に求核攻撃することで双性イオン中間体**I**が生成する (Scheme 7)。 α -カルボアニオン中間体**Ia**がジエノン

24のヒドロキシ基のプロトンを引き抜くことで、酸素アニオン**II**と中間体**III**が生成する。**III**は求電子剤として作用し、酸素アニオン**II**による γ -付加反応が進行する。生成した β -カルボアニオン**IV**の非対称化をとともなう分子内Michael付加反応により[3+2]環化反応が進行し、中間体**V**の水素移動、続く**VI**からの触媒の β -脱離により、目的環化体**25**が得られると考えられる。

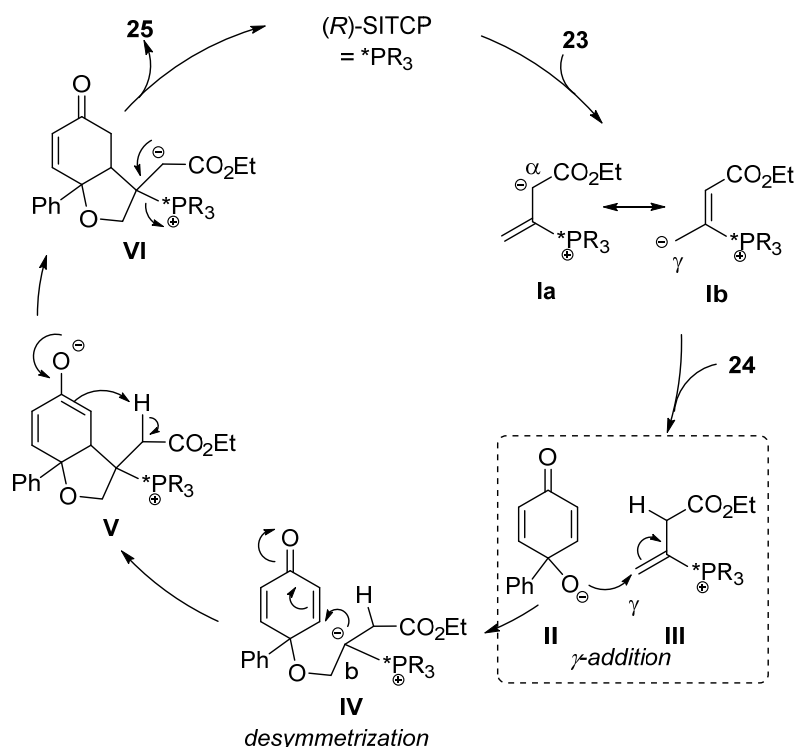
おわりに

本研究では、既存の触媒を用いた場合にはラセミ体の合成も困難な化合物を、光学活性体として合成することができた。しかし、反応の汎用性の向上や触媒量の低減等、まだまだ解決していかなければならない課題も多い。遷移金属触媒と有機分子触媒の長所を組み合わせた新規触媒反応の開発等についても今後検討していきたい。

Scheme 6



Scheme 7



謝辞

本研究の遂行にご支援を賜りました公益社団法人蓬庵社に厚く御礼申し上げます。
また、ご推薦いただきました村橋俊一先生に深謝いたします。

参考文献

- 1) SPRIX に関する総説 : Bajracharya, G. B.; Arai, M. A.; Koranne, P. S.; Suzuki, T.; Takizawa, S.; Sasai, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2009**, *82*, 285-302.
- 2) a) Arai, M. A.; Kuraishi, M.; Arai, T.; Sasai, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 2907-2908. b) Bajracharya, G. B.; Koranne, P. S.; Nadaf, R. N.; Gabr, R. K. M.; Takenaka, K.; Takizawa, S.; Sasai, H. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 9064-9066. c) Gabr, R. K. M.; Hatakeyama, T.; Takenaka, K.; Takizawa, S.; Okada, Y.; Nakamura, M.; Sasai, H. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 9518-9525. d) Tsujihara, T.; Takenaka, K.; Onitsuka, K.; Hatanaka, M.; Sasai, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 3452-3453. e) Takenaka, K.; Hashimoto, S.; Takizawa, S.; Sasai, H. *Adv. Synth. Catal.* **2011**, *353*, 1067-1070. f) Takenaka, K.; Dhage, Y. D.; Sasai, H. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 11224-11226. g) Takenaka, K.; Mohanta, S. C.; Sasai, H. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2014**, *53*, 4675-4679. h) Tsujihara, T.; Shinohara, T.; Takenaka, K.; Takizawa, S.; Onitsuka, K.; Hatanaka, M.; Sasai, H. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 9274-9279. i) Takenaka, K.; Mohanta, S. C.; Patil, M. L.; Rao, C. V. L.; Takizawa, S.; Suzuki, T.; Sasai, H. *Org. Lett.* **2010**, *12*, 3480-3483. j) Takenaka, K.; Akita, M.; Tanigaki, Y.; Takizawa, S.; Sasai, H. *Org. Lett.* **2011**, *13*, 3506-3509. k) Bajracharya, G. B.; Koranne, P. S.; Tsujihara, T.; Takizawa, S.; Onitsuka, K.; Sasai, H. *Synlett* **2009**, 310-314.
- 3) Tello-Aburto, R.; Harned, A. M. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 3998-4000.
- 4) a) Takizawa, S.; Katayama, T.; Sasai, H. *Chem. Commun.* (Feature Article), **2008**, 4113-4122. b) Takizawa, S.; Katayama, T.; Kameyama, C.; Onitsuka, K.; Suzuki, T.; Yanagida, T.; Kawai, T.; Sasai, H. *Chem. Commun.* **2008**, 1810-1812. c) Takizawa, S.; Arteaga, F. A.; Yoshida, Y.; Kodera, J.; Nagata, Y.; Sasai, H. *Dalton Trans.* **2013**, 11787-11790. d) Takizawa, S.; Rajesh, D.; Katayama, T.; Sasai, H. *Synlett* **2009**, 1667-1669. e) Takizawa, S.; Katayama, T.; Somei, H.; Asano, Y.; Yoshida, T.; Kameyama, C.; Rajesh, D.; Onitsuka, K.; Suzuki, T.; Mikami, M.; Yamataka, H.; Jayaprakash D.; Sasai, H. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 3361-3371. f) Takizawa, S.; Kodera, J.; Yoshida, Y.; Sako, M.; Breukers, S.; Enders, D.; Sasai, H. *Tetrahedron*, **2014**, *70*, 1786-1793.
- 5) Chu, C.-Y.; Hwang, D.-R.; Wang, S.-K.; Uang, B.-J. *Chem. Commun.* **2001**, 980.
- 6) a) Matsui, K.; Takizawa, S.; Sasai, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 3680-3681. b) Matsui, K.; Takizawa, S.; Sasai, H. *Synlett* **2006**, 761-765. c) Matsui, K.; Tanaka, K.; Horii, A.; Takizawa, S.; Sasai, H. *Tetrahedron: Asymmetry* **2006**, *17*, 578-583. d) Takizawa, S.; Kiriya, K.; Ieki, K.; Sasai, H. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 9227-9229.
- 7) Takizawa, S.; Inoue, N.; Sasai, H. *Tetrahedron Lett.* **2011**, *52*, 377-380.
- 8) Takizawa, S.; Inoue, N.; Hirata, S.; Sasai, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2010**, *49*, 9725-9729.
- 9) Takizawa, S.; Rémond, E.; Arteaga, F. A.; Yoshida, Y.; Sridharan, V.; Bayardon, J.; Jugé S.; Sasai,

- H. *Chem. Commun.* **2013**, 49, 8392-8394.
- 10) a) Takizawa, S.; Arteaga, F. A.; Yoshida, Y.; Suzuki, M.; Sasai, H. *Org. Lett.* **2013**, 15, 4142-4145.
b) Takizawa, S.; Arteaga, F. A.; Yoshida, Y.; Suzuki, M.; Sasai, H. *Asian J. Org. Chem.*, **2014**, 3, 412-415.

ベンザイン反応を基軸とする縮合複素環化合物の位置制御合成

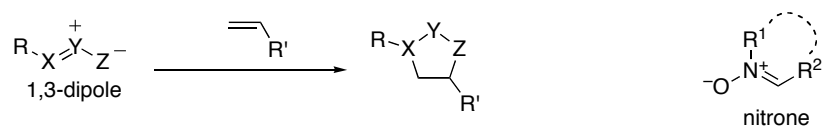
大阪大学大学院薬学研究科 赤井周司

新規 1,3-双極子の開発と応用研究

昭和薬科大学薬学部 薬化学研究室 田村 修

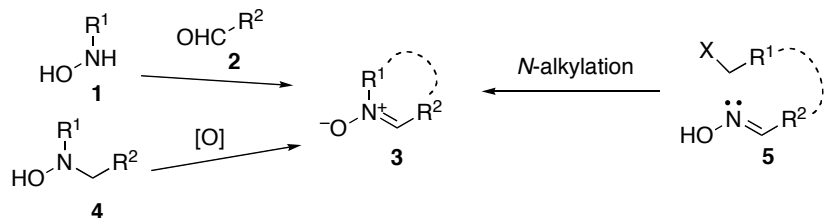
1. はじめに

アルカロイドやβ-ラクタムを例に挙げるまでもなく、医薬品を含めた多くの生理活性物質は含窒素化合物である。従って、立体化学を含めた含窒素骨格の構築法の開発は現在においても重要な課題である。この課題に対する解決法として我々は1,3-双極子付加環化反応に着目し、特にニトロンを中心課題に据え、工夫をこらしたニトロンを開発してきた。

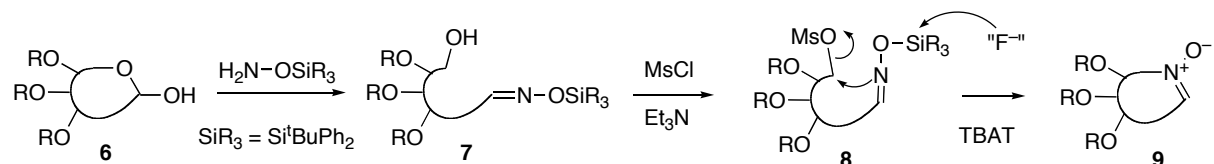


2. オキシム誘導体からニトロンへの変換：糖類からアミノ糖類への変換法の開発¹⁾

ニトロン $\mathbf{3}$ は、ヒドロキシルアミン $\mathbf{1}$ とアルデヒド $\mathbf{2}$ との縮合反応か、ジアルキルヒドロキシルアミン $\mathbf{4}$ の酸化反応により合成されていた。ここで、オキシム $\mathbf{5}$ の窒素原子を選択的にアルキル化できれば一般性の高いニトロンの合成法となる。

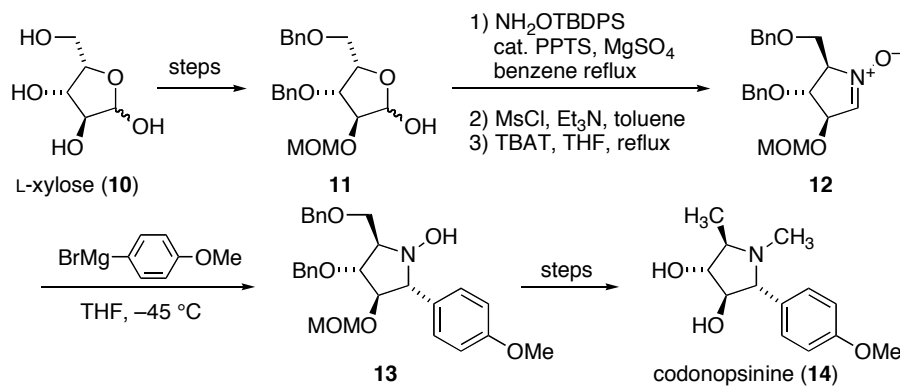


この形式の反応を検討した結果、ヘミアセタール $\mathbf{6}$ に*O*-*tert*-ブチルジフェニルシリルヒドロキシルアミンを反応させオキシム $\mathbf{7}$ として開環し、次いで生じた水酸基をメシル化することにより脱離基に変換して $\mathbf{8}$ とし、最後にフッ素アニオン種でケイ素を除去すると窒素原子が求核的に活性化されて、環化反応が進行し、環状ニトロン $\mathbf{9}$ を与える反応を見いだした。このとき、塩基性の低い $\text{Bu}_4\text{N}^+ \text{Ph}_3\text{SiF}_2^-$ (TBAT) を用いると収率良く反応が進行する。

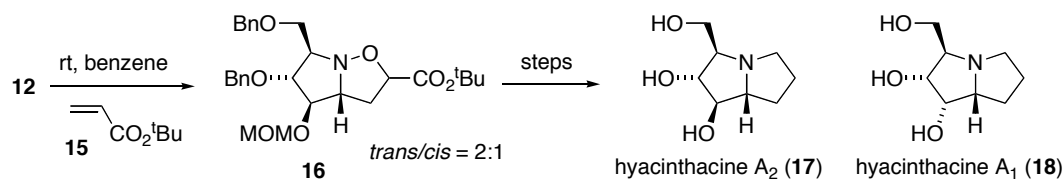


次に、合成的な応用を検討した。L-Xylose ($\mathbf{10}$)より導いたヘミアセタール $\mathbf{11}$ に $\text{H}_2\text{NOTBDPS}$ を縮合させ、生じた水酸基をメシル化後、TBATで処理すると環状ニトロン $\mathbf{12}$ が収率良く得

られた。ニトロン **12** に $\text{MeOC}_6\text{H}_4\text{MgBr}$ を作用させると MOMO 基に対してトランス選択的反応が進行して付加体 **13** のみが得られた。付加体 **13** より (-)-codonopisinine (**14**) が容易に合成できた。



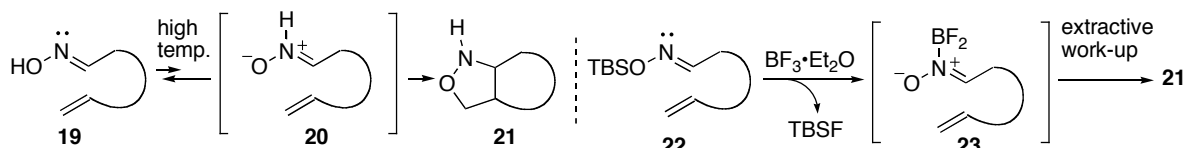
ニトロン **12** の付加環化反応を用いて hyacinthacine 類の合成に応用した。ニトロン **12** は **15** と室温で反応して付加環化体 **16** を与えた。付加環化体 **16** から N-O 結合の還元的に開裂等を経て hyacinthacin A₂ (**17**) 及び hyacinthacin A₁ (**18**) の合成に用いることができた。



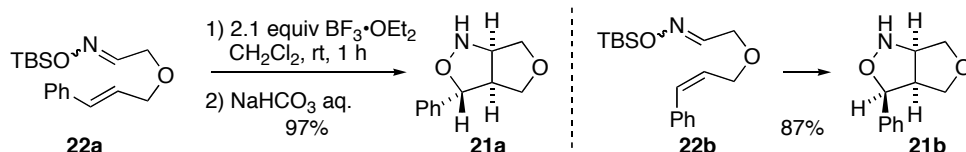
以上の様に、本ニトロン合成法は、保護された糖類からアザ糖類の合成に大変に都合がよい。現在では、*O*-シリルオキシムを経由する方法論は、糖類からニトロンへの変換の標準的な方法となっている。²⁾

3. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 存在下における ω -アルケニル *O*-シリルオキシムの分子内付加環化反応：N-ボラノニトロンの付加環化反応³⁾

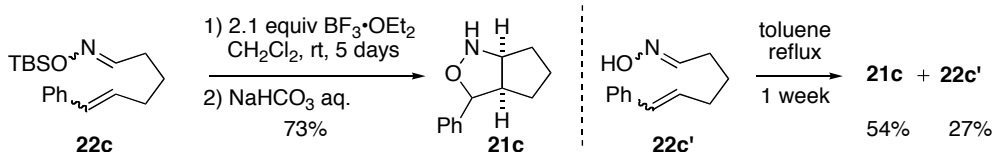
分子内にオレフィンをもつオキシム **19** の加熱により NH-ニトロン **20** を経由して **21** を与える反応は分子内オキシム-オレフィン付加環化反応と呼ばれ、簡便なため 1990 年代の後半から精力的に研究された。⁴⁾ しかし、反応に必須な **19** から **20** への変換に高温が必要であり、反応が進行するかどうかは、基質の構造に大きく依存する。この問題を、ホウ素と窒素、ケイ素とフッ素の親和性を用いることにより解決した。すなわち、*O*-シリルオキシム **22** は $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ と反応し、TBSF の脱離を伴って N-ボラノニトロン **23** を生じる。これが、分子内付加環化反応を起こし、後処理後付加環化体 **21** を与えるというものである。



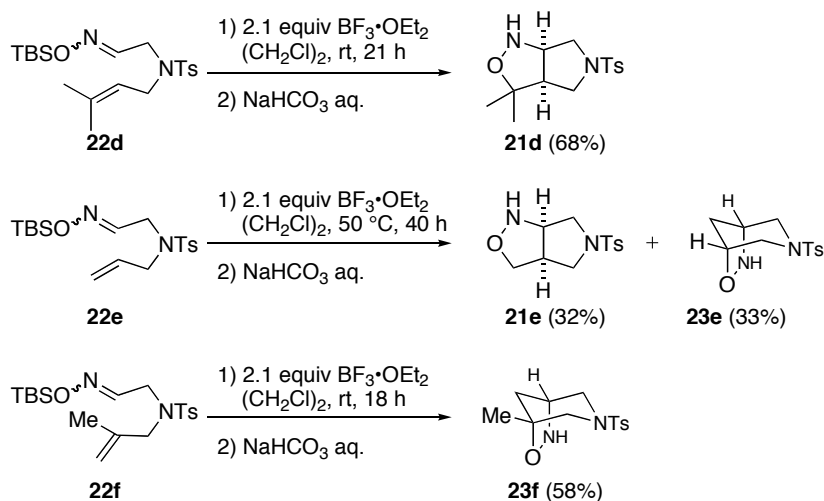
trans アルケンを側鎖に有するオキシム **22a** を 2.1 当量の $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ と室温で反応させた後、後処理を行うと 97% の収率で付加体 **21a** が得られた。この際、2 当量の $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ は必須であり、1.1 当量の $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ では、収率は 50% となる。一方、対応する *cis*-体 **22b** を同条件で処理すると **21b** のみが得られ、反応は立体特異的であることが分かった。



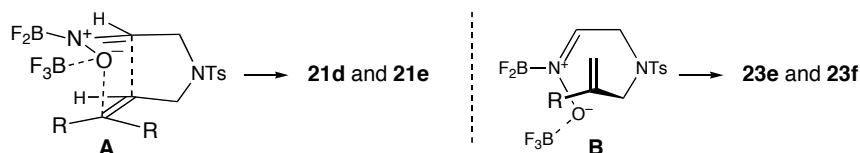
シリルオキシム **22c** は 5 日間を必要とするものの室温で反応し、**21c** を 73% の収率で与えた。一方、対応するオキシム **22c'** をトルエン中 1 週間加熱還流しても反応は完結しない。



次に、アルケン部分の置換様式による反応性や生成物の違いを調べた。ジメチル基をアルケン末端に有するオキシム **22d** の反応は室温で円滑に進行し **21d** を収率良く与えた。オキシム **22e** は 40 °C で通常のビシクロ[3.3.0]型付加環化体 **21e** とビシクロ[3.2.1]型付加環化体 **23e** の当量混合物を与えた。メタリル側鎖を有するオキシム **22f** はビシクロ[3.2.1]型付加環化体 **23f** のみを与えた。

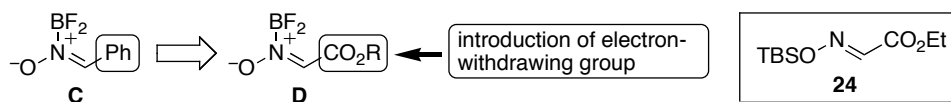


付加環化体 **21d** と **22e** は遷移状態 **A** を経由して生成し、**23e** と **23f** は **B** を経由して生成したと考えられる。遷移状態 **A** は **B** よりもひずみは小さい。**B** を経由する反応が進行するのは、おそらく BF_3 が酸素原子に配位することにより求電子的となった *N*-ボラノニトロンの炭素原子に、アルケン側鎖のより電子密度の高い部分が反応し易いためであると考えられる。



4. $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 存在下における *O*-シリルオキシムの分子間付加環化反応⁵⁾

先の *N*-ボラノニトロンの反応を分子間反応へ展開することにした。当初ベンズアルデヒド *O*-シリルオキシムの反応を検討したが反応性に乏しかった。先の分子内反応で示されたように、*N*-ボラノニトロンが求電子的であることを考慮して、ニトロン **C** のフェニル基の代わりにエステルを導入して電子求引性を増し、ニトロン **D** とし、反応活性を向上させることを考えた。そこで、エチルエステルを導入したオキシム **24** を出発物質として用いることとした。



2.2 当量の $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ 存在下にて各種アルケン **25** (10 当量) との反応を試みた (Table 1)。分子間反応であるので若干の加温 (60 °C) を必要とした。末端アルケン **25a-25c** との反応では

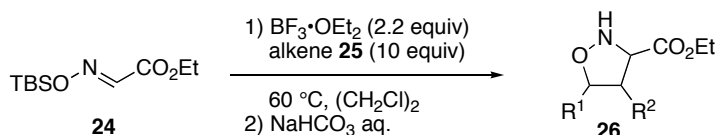
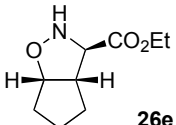
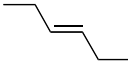
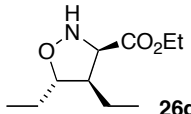
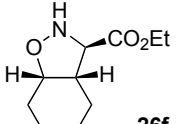
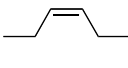
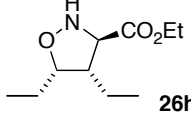


Table 1

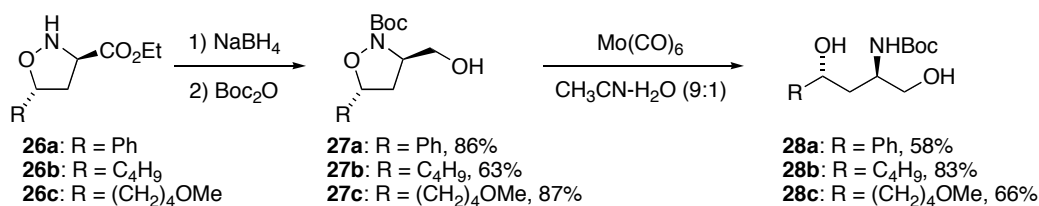
Entry	Alkene	Time	Product (major)	% Yield (<i>trans:cis</i>)	Entry	Alkene	Time	Product (major)	% Yield (<i>trans:cis</i>)
1		2 h		71 (5 : 1)	3		22 h		61 (7 : 1)
2		18 h		78 (77 : 1)	4		15 h		53 (6 : 1)

continued Table 1

Entry	Alkene	Time	Product (major)	% Yield (<i>trans</i> : <i>cis</i>)	Entry	Alkene	Time	Product (major)	% Yield (<i>trans</i> : <i>cis</i>)
5	 25e	2 h	 26e	65 (8 : 1)	7	 25g	3 h	 26g	27 (single isomer)
6	 25f	6 h	 26f	33 (8 : 1)	8	 25h	3 h	 26h	33 (26g : 26h = 1:2)

何れも 3,5-*trans* 付加環化体 **26a-26c** が優先的に生成した (entry 1-3)。エステルを有する **25d** はエステル同士が *trans* 配置を有する付加環化体 **26d** を与えた (entries 4)。環状アルケン **25e** と **25f** では五員環の **25e** の方が反応活性は高い (entries 5 and 6)。また、鎖状内部アルケン **25g** と **25h** では、*cis* 体の **25h** の反応で部分的な異性化が見られた。

本反応は、*anti*-アミノアルコールの合成に有用である。付加環化体 **26a-26c** のエステルを NaBH₄ で還元後、窒素原子を Boc 化して **27a-27c** とした。最後に N-O 結合を還元的に開裂することにより、**28a-28c** が得られた。



ニトロンの電子的な性質を知るために、オキシム **24** のアミド類縁体 **29** を合成し、その反応を検討した (Table 2)。反応はエステル誘導体 **24** の場合と同様に 60 °C で行った。これ

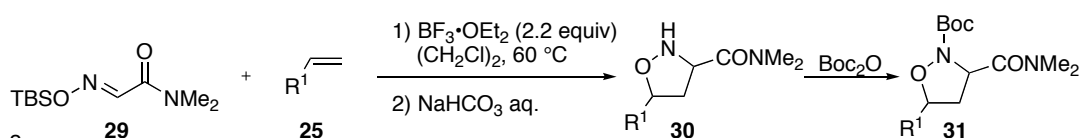
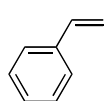
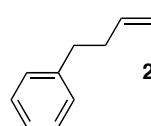
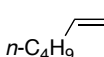
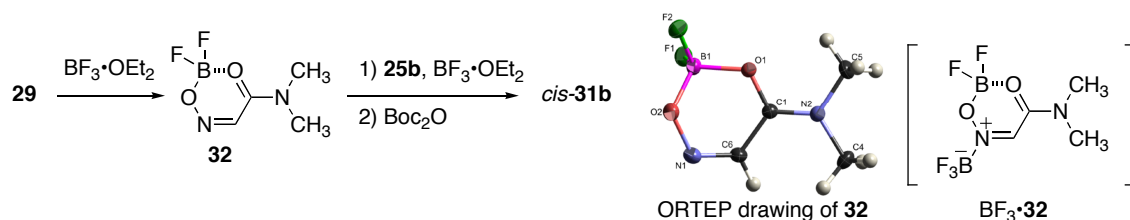


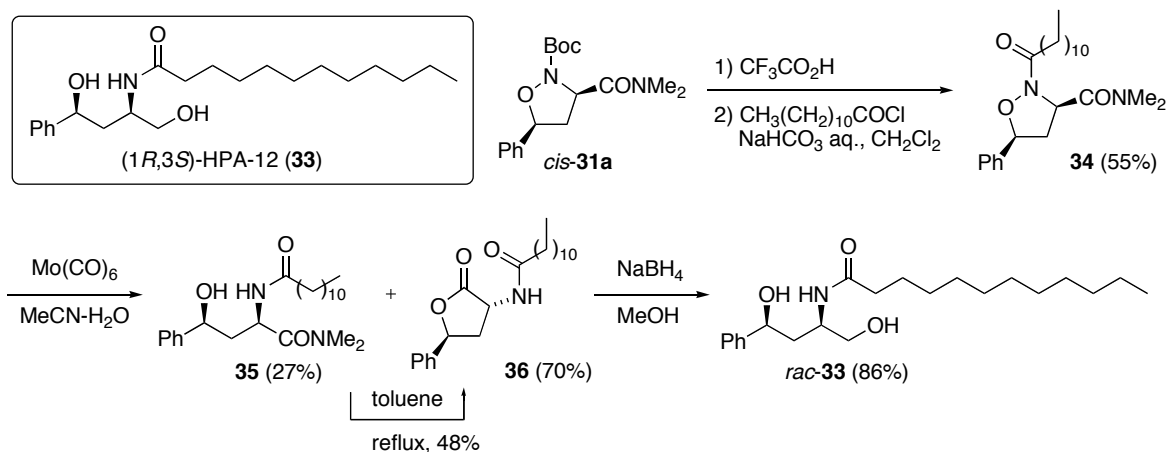
Table 2							
entry	Alkene 25	Reaction Time	Yield (%) of 31 (<i>cis:trans</i>)	entry	Alkene 25	Reaction Time	Yield (%) of 31 (<i>cis:trans</i>)
1	 25a	30 h	99 (3.4:1)	3	 25k	46 h	87 (3.6:1)
2	 25b	32 h	97 (<i>cis</i> only)	5	 25f	55 h	72 (5.3:1)

までの経験から、付加環化体に NH がある場合には、NMR のシグナルがブロードニングすることが分かっていたため、粗生成物 **30** を Boc 化して N-Boc 付加環化体 **31** として単離した。オキシム **29** の反応はエステル誘導体 **24** よりもより長時間を必要とするものの、付加体を与えた。立体化学に関しては、エステル **24** の場合とは異なり、3,5-*cis* 体 *cis*-**31** を主生成物として与えた。

反応中のフラスコ内を観察していると、溶液から結晶性の沈殿がいったん析出し、反応が進行して行くにつれて溶解していた。そこで、析出する結晶性の沈殿を単離し、単結晶 X-線解析を行ったところ、その結晶はホウ素を含む六員環化合物 **32** であることが分かった。化合物 **32** とアルケン **25b** を混合しても全く反応が起こらない。しかし、この混合物にもう 1 当量の $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ を加えると反応が進行し、後処理後、粗生成物を Boc 化すると *cis*-**31b** が得られた。これらの実験から、反応活性種は $\text{BF}_3 \cdot \text{32}$ であると考えられる。

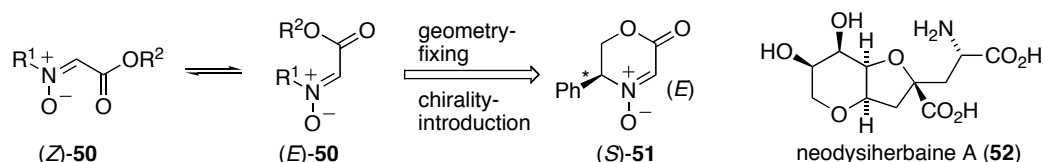


HPA-12 (**33**)は、小胞体からゴルジ体へセラミドを輸送するタンパクである CERT の阻害剤として見出され、*syn*-体である(1*S*,3*R*)-HPA-12 の活性が高い。オキシム **29** の *cis*-付加環化体を利用して、*syn*-HPA-12 (*rac*-**33**) を合成した。付加環化体 *cis*-**31a** の Boc 基を除去した後、アシル化して **34** を得た。次いで、N-O 結合を還元的に開裂してアミノアルコール **35** とラクトン **36** が得られた。化合物 **35** を加熱してラクトン **36** に収束し、最後にラクトンを還元することにより *rac*-**33** に導いた。

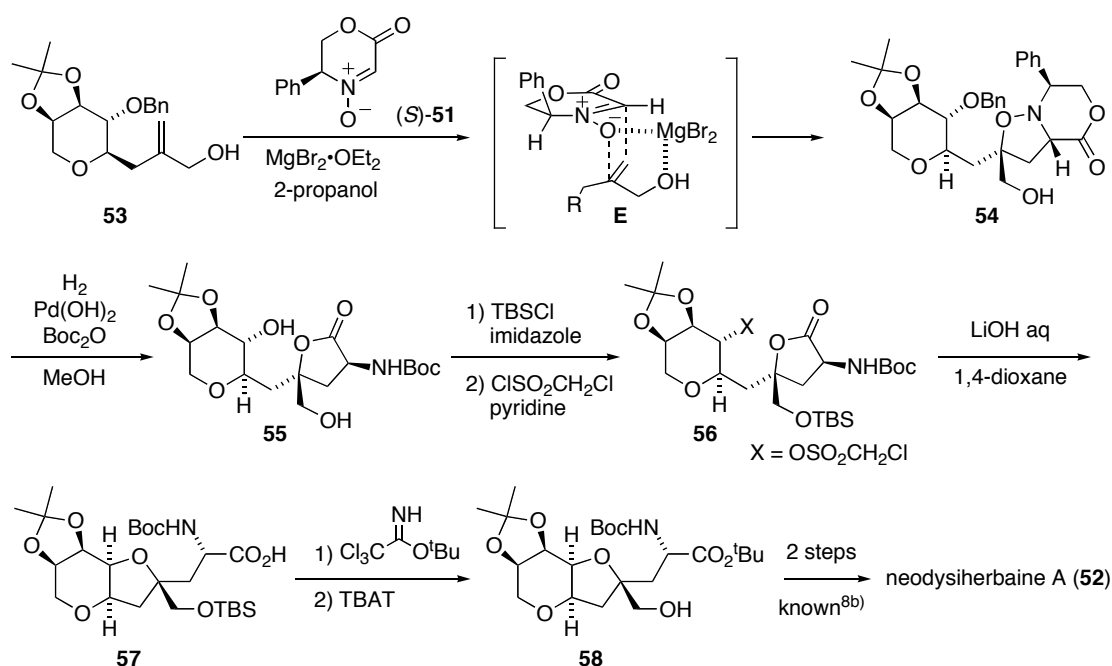


5. ニトロンの付加環化反応を用いる Neodysiherbaine A の合成研究

C-アルコキシカルボニルニトロン **50** は溶液中、室温においても(Z)-**50** と(E)-**50** の平衡混合物で存在する。これが、ニトロン **50** の付加環化反応が立体異性体の混合物を与える一因になっていた。当研究室では(E)-**50** の幾何構造を(E)-型に固定し、キラリティを導入した(S)-**51** を合成し、その合成的応用を行ってきた。⁷⁾ 今回、non-NMDA グルタメート受容体の強力なアゴニストとして知られる neodysiherbaine A (**52**)⁸⁾ の合成研究を行った。



D-mannose から合成したアリルアルコール **53** を MgBr_2 存在下でニトロン(S)-**51** と反応させるとキレートで制御された付加環化反応が進行し、⁹⁾ 遷移状態 **E** を経由して反応が進行して、付加環化体 **54** のみを与えた。次いで、**54** を Boc_2O 存在下で加水素分解に付すと、O-ベンジル、N-ベンジル位および N-O 結合が還元的に切断され、生じた第三級水酸基からラクトン化し、さらに、アミノ基が保護されたラクトン **55** が得られた。第一級水酸基を保護し、二級水酸基をクロロメシル化して脱離基に変換し、**56** を得た。**56** を水酸化リチウムで処理すると、まずラクトンが加水分解され、生じた第三級水酸基が分子内 $\text{S}_{\text{N}}2$ 反応を起こし、テトラヒドロフラン環を構築し、カルボン酸 **57** を与えた。カルボン酸 **57** を *tert*-ブチルエステルとし、水酸基の保護基を除去して、既知の中間体 **58**^{8b)} に導いた。現在、実際に **52** を合成することと、合成工程後半の収率向上を検討している。



6. おわりに

「ニトロン」をキーワードとする研究を紹介した。誰もが使用し易い簡便な反応や、結果が予測し易い信頼性の高い反応を開発し、薬学の発展に貢献したい。

謝辞

石橋弘行先生を初めとする共同研究社の方々に感謝致します。本研究の一部は公益財団法人蓬庵社の研究助成によるものであり、篤くお礼申し上げます。また、ご推薦下さいました北川 勲先生、北 泰行先生に深く感謝致します。

参考文献

- 1) (a) Tamura, O.; Toyao, A.; Ishibashi, H. *Synlett*, **2002**, 1344–1346. (b) Toyao, A.; Tamura, O.; Ishibashi, H. *Synlett*, **2003**, 35–38.
- 2) For examples, see: (a) Marquès, S.; Schuler, M.; Tatibouët, A. *Eur. J. Org. Chem.* **2015**, 2411–2427. (b) Liu, C.; Kang, H.; Wightman, R. H.; Jiang, S. *Tetrahedron Lett.* **2013**, *54*, 1192–1194. (c) Kato, A.; Yu, C.-Y. *et al. J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 10298–10309. (d) Racine, E.; Bello, C.; Gerber-Lemaire, S.; Vogel, P.; Py, S. *J. Org. Chem.* **2009**, *74*, 1766–1769.
- 3) (a) Tamura, O.; Mitsuya, T.; Ishibashi, H. *Chem. Commun.* **2002**, 1128–1129. (b) Tamura, O.; Mitsuya, T.; Huang, X.; Tsutsumi, Y.; Hattori, S.; Ishibashi, H. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 10720–10725.
- 4) For examples, see: (a) Bhattacharjee, A.; Datta, S.; Chattopadhyay, P.; Ghoshal, N.; Kundu, A. P.; Pal, A.; Mukhopadhyay, R.; Chowdhury, S.; Bhattacharjya, A.; Patra, A. *Tetrahedron* **2003**, *59*, 4623–4639. (b) Noguchi, M.; Okada, H.; Tanaka, M.; Matsumoto, S.; Kakehi, A.; Yamamoto, H. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2001**, *74*, 917–925. (c) Falb, E.; Bechor, Y.; Nudelman, A.; Hassner, A.; Albeck, A.; Gottlieb, H. E. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 498–506. (d) Falb, E.; Bechor, Y.; Nudelman, A.; Hassner, A.; Albeck, A.; Gottlieb, H. E. *J. Org. Chem.* **1999**, *64*, 498–506. (e) Moutel, S.; Shipman, M. *Synlett* **1998**, 1333–1334.
- 5) (a) Tamura, O.; Morita, N.; Takano, Y.; Fukui, K.; Okamoto, I.; Huang, X.; Tsutsumi, Y.; Ishibashi, H.; *Synlett* **2007**, 658–660. (b) Morita, N.; Fukui, K.; Irikuchi, J.; Sato, H.; Takano, Y.; Okamoto, I.; Ishibashi, H.; Tamura, O. *J. Org. Chem.* **2008**, *73*, 7164–7174. (c) Morita, N.; Kono, R.; Fukui, K.; Miyazawa, A.; Masu, H.; Azumaya, I.; Ban, S.; Hashimoto, Y.; Okamoto, I.; Tamura, O. *J. Org. Chem.* **2015**, *80*, 4797–4802.
- 6) (a) Guinchard, X.; Vallée, Y.; Denis, J.-N. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 5147–5150. (b) Gioia, C.; Fini, F.; Mazzanti, A.; Bernardi, L.; Ricci, A. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 9614–9615.
- 7) (a) 田村 修 有合化, **2010**, *68*, 1272–1285. (b) Tamura, O. Geometry-Controlled Cycloaddition of C-Alkoxy carbonyl Nitrones: Synthetic Studies on Nonproteinogenic Amino Acids; In “*Methods and Applications of Cycloaddition Reactions in Organic Syntheses*” Nishiwaki, N. Ed.; Wiley; 2014.
- 8) (a) Sakai, R.; Koike, T.; Sasaki, M.; Shimamoto, K.; Oiwa, C.; Yano, A.; Suzuki, K.; Tachibana, K.; Kamiya, H. *Org. Lett.* **2001**, *3*, 1479–1482. (b) Donohoe, T. J.; Winship, P. C. M.; Tatton, M. R.; Szeto, P. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 7604–7606.
- 9) Tamura, O.; Shiro, T.; Ogasawara, M.; Toyao, A.; Ishibashi, H. *J. Org. Chem.* **2005**, *70*, 4569–4577.

小員環炭化水素を構造素子とする創薬リード化合物の創製

京都大学大学院薬学研究科 高須 清誠