(第38回) 公益財団法人 篷庵社 研究助成発表会

講演要旨集

令和元年7月16日(火)

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:令和元年7月16日(火) 13時00分から17時25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アム

*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	
	演題および演者(講演 25 分、討論 10 分)	座長
13:05-13:40	 天然薬物を素材とした含硫黄・含窒素成分の探索 中村 誠宏 先生 (京都薬科大学 生薬学分野) 	(篷庵社評議員) 小林 資正 先生
13:40-14:15	 神経細胞内 シンドリアの局在制御とその破綻による 神経変性のメカニズム 安藤 香奈絵 先生 (首都大学東京 理学部生命科学科) 	(篷庵社理事) 桐野 豊 先生
14:15-14:50	 糖尿病病態因子による幹細胞機能障害の同定 今村 武史 先生 (鳥取大学医学部 病態解析医学講座 薬理学・薬物療法学分野) 	(篷庵社理事) 宮崎 瑞夫 先生
14:50-15:25	《特別研究助成》 4. 統合的戦略に基づく新規 PPI 阻害剤の創製 古徳 直之 先生 (立命館大学薬学部 生命薬化学研究室)	(塩野義製薬㈱ 創薬化学研究所) 釘宮 啓 氏
15:25-15:40	休 憩	
15:40-16:15	5. グリーンケミストリーを指向した新規触媒の開発と応用 矢倉 隆之 先生 (富山大学大学院医学薬学研究部(薬学))	(篷庵社理事) 北 泰行 先生
16:15-16:50	 6. 強酸性炭素酸とその共役塩基に着目した新触媒の開発 矢内光先生 (東京薬科大学 薬学部) 	(篷庵社評議員) 大和田 智彦先生
16:50-17:25	《特別研究助成》 7. 低分子・中分子創薬を加速する革新的骨格構築法の 開発と応用 大野 浩章 先生	(塩野義製薬㈱ 創薬化学研究所) 井埜 章 氏
	(京都大学大学院薬学研究科 薬品有機製造学分野)	

目 次

1. 中村 誠宏 「天然薬物を素材とした含硫黄・含窒素成分の探索」 1 2. 安藤 香奈絵 「神経細胞内ションドリアの局在制御とその破綻による 神経変性のメカニズム 11 今村 武史 3. 「糖尿病病態因子による幹細胞機能障害の同定」 21 古德 直之 4. 「統合的戦略に基づく新規 PPI 阻害剤の創製」 31 矢倉 隆之 5. 「グリーンケミストリーを指向した新規触媒の開発と応用| 41 矢内 光 6. 「強酸性炭素酸とその共役塩基に着目した新触媒の開発」 51 7. 大野 浩章 「低分子・中分子創薬を加速する革新的骨格構築法の 開発と応用| 61

天然薬物を素材とした含硫黄・含窒素成分の探索

京都薬科大学 生薬学分野 中村誠宏

1. はじめに

天然物化学は医薬品開発に多大な貢献を果たしてきた。これは、1981 年から 2014 年までに 承認された全 1562 種の新薬において、"天然物"及び"天然物誘導体"と分類されるものが 396 種 (25.3%) あり、全体の約 4 分の 1 を占めていることからも窺い知ることができる。さらに、天然 物が有する骨格やファーマコフォアをモデルに設計された医薬品を加味すると、791 品目 (50.6%) になる。それゆえ、現在においても天然由来化合物は創薬に重要であるといえる。

このような背景のもと、我々の研究室では世界各地の天然薬物・民間薬、とりわけ和漢生薬、 東南アジアおよび南米天然薬物について、化合物の単離、構造決定および化学修飾や化学変換な どの化学的手法と種々の生物活性スクリーニングなど薬理学的手法の両手法を用いて生体機能性 成分の探索を行ってきた。例えば、含有成分レベルでの薬効解明研究はほとんど行われていない メディシナルフラワー (薬用花) に着目して生体機能成分の探索を進めた。その結果、日本お よび中国(福建省、四川省、安徽省) 産茶花(Camellia sinensis、花部) からカテキン類やフラボ ノイド類の他に、主要成分としてアシル化トリテルペン配糖体を明らかにするとともにそれらの 成分が血糖および中性脂質上昇抑制、胃粘膜保護作用等を有することを明らかにした。さらに、 トリテルペン配糖体成分が代謝吸収されることなく、消化管での神経刺激によって各種神経メデ ィエータと受容体を介して多様な薬理作用を発現させることを見出した。その他、ツバキ科植物 の花部 [椿花、茶子木花、山茶花]、イランイラン花、金木犀花、金針花、蓮花、桜花、サトウヤ シ花、ハナシュクシャ花、人参花、広東人参花などからメラニン生成抑制、抗アレルギー等を示 す多数のジテルペン、トリテルペン配糖体、アルカロイドなどを明らかにした」。また、エジプ トなどの中近東地域で薬用食品として用いられるエジプトニガウリ(Citrullus colocynthis、果 実)から種々のククルビタン型トリテルペン配糖体を見出すとともに、サポゲノール cucurbitacin Eが強力な細胞増殖抑制活性を示すことを明らかにし、その標的タンパク質がアクチンの脱重合 を制御する cofilin であることを見出した。さらに、ブラジル伝承薬 [ロベイラ、パフィア、イン スリーナ、マテ など]、タイ、インド伝承薬 [ジャワナガコショウ、カレーリーフなど] および和 漢薬 [甘茶、紫陽花、垂盆草、管花肉蓯蓉、高山紅景天、大花紅景天など] から抗糖尿病、抗炎 症、肝保護作用を示すモノテルペン配糖体、ステロイド配糖体、フラボノール配糖体、芳香族化 合物などの多数の機能性成分を明らかにするなど、世界各地の天然薬物から 2005 年以降で計 1400 種以上の含有成分を単離するとともにそれらの成分および誘導体が多様な生物活性を有す ることを見出した。

本研究では、これまでの著者らの研究成果のうち、特に 2015 年以降行ってきた伝承薬物・ (薬用)植物を素材としたユニークな構造を有する含窒素、含硫黄含有成分の探索研究 [①キン ポウゲ科クロタネソウ (Nigella damascena) 種子を素材とした含窒素環状成分の探索 ②トウダイ グサ科ヤマアイ (Mercurialis leiocarpa) 地上部を素材とした含窒素環状成分の探索 ③Allium 属植 物を素材とした環状含硫黄化合物の探索研究] について報告する。

キンポウゲ科クロタネソウ(Nige//a damascena) 種子を素材とした含窒素環状成分の 探索^{2,3}

キンポウゲ科植物は、トリカブト (Aconitinum japonicum) やオウ レン (Coptis japonica) に代表されるようにテルペンやテルペンアル カロイドを含有することが知られており、有用な医薬品資源にな りうると考えられる。キンポウゲ科植物の一つであるクロタネソ ウは南ヨーロッパを原産とする一年草であり、世界中で園芸品種 として親しまれている(図1)。しかしながら、その生体機能性や



図 1. クロタネソウ

含有成分はほとんど明らかにされていなかった。一方、キンポウゲ科植物ニオイクロタネソウは 食用や薬用としてエジプトやインドで古くから親しまれている。伝承薬効としては咳・喘息の治 療、母乳分泌作用を期待して用いられており、抗炎症効果、抗菌・抗真菌効果、免疫賦活作用、 血糖降下作用など数多くの報告がなされている。また、以前我々の研究室ではニオイクロタネソ ウ(*Nigella sativa*)からマウス初代培養肝細胞を用いた細胞内脂質代謝促進様作用を有するドラベ ラン型ジテルペンなどを見出している⁴。今回、著者らはキンポウゲ科植物からの稀有な骨格を 有する薬用植物成分の探索を目的とし、ニゲラ属植物クロタネソウ(*N. damascena*) 種子の含窒素 環状成分の探索を行った。

2-1. クロタネソウ(N. damascena) 種子含有成分の探索

京都府産(京都薬科大学薬用植物園)クロタネソウ (N. damascena) 種子をメタノールで熱時抽 出し、酢酸エチル、n-ブタノール、水を用いて可溶性分画に分離した。酢酸エチル分画を順相カ ラムクロマトグラフィーにより分離し、多波長検出型 HPLC 分析における UV 吸収パターンや NMR 解析から含窒素化合物を含む分画や複数の芳香環を有するテルペン分画を推定した。得ら れた分画を逆相カラムクロマトグラフィー、次いで HPLC により繰り返し精製することで1種の 新規アルカロイド oxazonigelladine (1)、8種の新規ドラベラン型ジテルペンおよびジテルペンア ルカロイド damasterpene I-VIII (2-9) を単離した(図 2)。これらの化学構造は1次元および2次 元 NMR をはじめとする各種物理化学的データにより決定した。1は天然物において稀有なイソ キサゾリジノン骨格を有しており、その窒素原子と酸素原子の直接結合の確認が必要不可欠であ



図 2. Nigella 属植物から得られた化合物 (1-16) および誘導体 (17-20) の構造

った。そこで各種溶媒を検討することで結晶化を試みた結果、酢酸エチル:エタノール:アセト ニトリル=1:1:1を用いた場合に結晶化に成功し、X線単結晶構造解析により構造を確認する ことができた(図3)。



図 3. Oxazonigelladine (1)、damasterpene I (2) の構造と ORTEP 図

一般的にイソキサゾリジノン骨格は窒素原子と酸素原子の電子的反発により不安定であると予 想されるが、1 は比較的安定な化合物として単離された。そこで著者は1 の化学的安定性につい て X 線単結晶構造解析法および Spartan'14 を用いて検討を行った。すなわち、1 の最安定化構造 を計算し、静電ポテンシャル図を作成した。作成した静電ポテンシャル図より、カルボニル酸素 および窒素原子と隣接した酸素原子 (O₂) において電子密度の偏りが推測され、窒素原子から酸 素原子にかけて電子が流れていることが予測された。次に、X 線単結晶構造解析における1 の 二面角を検討したところ、C7a-C1-O2-N3 の二面角が-3.3°、C1-O2-N3-C3a の二面角が 5.4°である ことから、イソキサゾリジノン環はほとんど平面で存在していることが推察された。したがって、化合物1は共鳴安定化により化学的安定性が向上していることが考えられた(図4)。



図 4. Oxazonigelladine (1) の化学的安定性の検討

一方、damasterpene 類は高度に酸素官能基を持つ特徴的な構造を有しており、8~10ヵ所の光 学活性中心をもっていた。その立体構造の決定には、X線単結晶構造解析法および励起子キラリ ティー法を適用した。種々の検討により damasterpene I(2) はアシル基を部分的に切断すると結晶 性が向上し単結晶を形成したため、X線単結晶構造解析によりその立体化学構造を決定すること ができた。一方、励起子キラリティー法では12位の二重結合と13位のベンゾイル基によって生 じる Cotton 効果を測定することで 13 位の絶対立体配置の決定を試みた。2 の CD スペクトルを 測定したところ、Cotton 効果は不明瞭であった。その原因として複数のアシル基による相互作用 が考えられた。そこで、2つのアシル基(9および10位)を取り除き CD スペクトルを測定した ところ、明確な負の Cotton 効果 (223.0 nm、*Δε* = −5.55) が観測されたことから 2 の 13 位の絶対立 体配置が R であると決定することができた。また、ニオイクロタネソウ (N. sativa) からは nigellamine B2(13) をはじめとする4種の主要ジテルペン(13-16)を単離した。クロタネソウとニ オイクロタネソウの含有ジテルペンについて構造の比較検討を行った。いずれのジテルペンもド ラベラン型であったが、クロタネソウに含まれるジテルペンは4つのアシル基を有し、1つある いは2つのフェニルアセチル基を有していた。ニオイクロタネソウに含まれる主要ジテルペン (13-16)は3つのアシル基を有し、1つあるいは2つのニコチン酸を有すること、18位に酸素官 能基を持つことが特徴として挙げられた。また、二重結合の位置が異なるため立体的に異なるコ ンフォメーションをとることが示唆された。

2-2. クロタネソウ種子含有成分の抗 HSV-1 活性評価

クロタネソウ種子単離成分について Vero 細胞を用い plaque reduction assay 法により抗 HSV-1 活性の評価を行った。その結果、6[35.0±3.7%、10μM]をはじめ数種のドラベラン型ジテルペンが 有意な抗 HSV-1 活性を示した。そこで、構造活性相関を検討する目的で単離ジテルペンを段階的 に脱アシル化し同様に活性を評価した。アシル基の数に注目すると、2ヵ所にアシル基が結合し た化合物は活性を示したが [17、32.0±1.5%、10 μ M]、アシル基を4ヵ所もしくはアシル基を持 たない化合物は活性を示さなかった。さらに、damasterpeneの9位のアシル基の種類に着目する と、ニコチン酸を有する化合物3および5はアセチル基を有する化合物2および4よりも活性が 高かった。抗 HSV-1 活性とは対照的に damasterpene VIII (9) では 10 μ M において細胞毒性を示さ ずに細胞変性効果に起因するプラーク径の拡大が観察された。プラーク径を増大させる天然有機 化合物は著者らの知る限り前例がない。一方、1 はそれのみでは抗 HSV-1 活性を示さないにも関 わらず、アシクロビル [32.5±12.9%、1 μ M] と併用することによりアシクロビルの抗 HSV-1 活性 を増強した [64.6±15.3%、アシクロビル 1 μ M + 1 50 μ M]。

トウダイグサ科ヤマアイ(Mercurialis leiocarpa)地上部を素材とした含窒素環状成分の 探索

藍やアカネなどに代表される染料植物は染料として用い られるばかりでなく多様な生物活性を有することが知られ ている。例えば、藍の主要成分であるインドール二量体イ ンディゴは抗炎症作用を示すことが報告されている。一 方、トウダイグサ科ヤマアイ (*Mercurialis leiocarpa*) は、日 本各地の森林に群生している多年草であり、日本最古の染



図 5 ヤマアイ (M. leiocarpa)

料として知られ青色染料として用いられてきた(図5)。すなわち、ヤマアイの茎を裁断し乾燥さ せると深い藍色に変化する。この色の変化はヤマアイに含有するピリジンジオン誘導体 hermidine (25c) が酸化・重合しピリジントリオン二量体 chrysohermidine が得られ、その後縮環反 応を経て生成するピロールジオン二量体 isochrysohermidine によると考えられている⁵。著者らは、 ジピロール誘導体が創薬シーズとなり得ると考えヤマアイ (*M. leiocarpa*) を素材とした含窒素成分 の探索を行った。また、得られた成分の生成経路を推定し、その生成経路を模倣することで非対 称ジピロール誘導体など多様な含窒素環状化合物の合成を試みた。

京都府産(京都薬科大学薬用植物園)ヤマアイ (*M. leiocarpa*)の地上部をメタノールで熱時抽出 し、酢酸エチルおよび水を用いて分配抽出を行った。得られた酢酸エチル分画を順相・逆相カラ ムクロマトグラフィーおよび HPLC により分離した。その結果、1種の非対称ジピロール構造を 有する新規化合物 leiocarpanine A (21) および 3種の既知ピロール誘導体 22-24 を含む計 11種の成 分を明らかにした。21 の化学構造は NMR をはじめとする各種物理化学的データおよび X 線単結 晶構造解析により決定した。次に、leiocarpanine A (21)の生成過程について検討を行った。これ までに、ピロールジオン二量体 isochrysohermidine の生成過程として、hermidine (25c)の空気酸化、 ラジカル付加反応による ジピリジン誘導体 chrysohermidine の生成、続くベンジル酸型転位(フ ァヴォルスキー型転位)により得られると推定されている⁵。しかし、今回得られた新規化合物 21 は非対称ジピロール構造を有することから異なる生成経路が関与すると考えられた。



図 6. ヤマアイから単離されたジピロール誘導体および leiocarpanine A (21)の ORTEP 図

すなわち、第一段階として、ヤマアイに含有すると推定される hermidine (25c) が酸化によりラ ジカル体 cyanohermidine (25e) へと変換される。次に、25e が 3-methoxy-1-methyl-1*H*-pyrrole-2,5dione (25d) とのラジカル付加反応により重合体へと変換され、その後ピリジントリオン部分の六 員環がベンジル酸型転位反応により五員環へと縮環し新規化合物 leiocarpanine A (21) が得られる と推定した。そこで、本生成経路を模倣することで非対称ジピロール誘導体の合成を検討した。



(2) sodium hydrosulfite (Na₂S₂O₄) aq., CHCl₃ (rt, bubbling by N₂).

(b) Et₃N, MeOH (reflux).

図 7. leiocarpanine A (21) の合成

leiocarpanine A (21)

すなわち、4-methoxy-1-methylpyridine-2,6-dione (25a)を出発原料とし、ペルオキソニ硫酸カリ ウムにより酸化することで 4-methoxy-1-methylpyridine-2,3,6(1*H*)-trione (25b)およびベンジル酸型 転位反応により生成する 3-methoxy-1-methyl-1*H*-pyrrole-2,5-dione (25d)の混合物を得た。次に、本 混合物を精製することなくクロロホルムと水の混合溶媒中、窒素ガスによりバブリングを行いな がらハイドロサルファイトナトリウム (次亜硫酸ナトリウム)により還元を行い25bをhermidine (25c)へと変換した。次に、hermidine (25c)から cyanohermidine (25e)への誘導のため、次亜硫酸ナ トリウムを含む水溶液を分液により十分に除去し、再度水をクロロホルム層に加え抽出操作を行 った。得られた水層 (25eと25dを含有)を12時間静置(攪拌)したところ25eと25dとのラジ カル付加反応が進行し重合体25fが得られた。最終的に本重合体を含む混合物をメタノール中ト リエチルアミンと処理したところ、縮環反応が進行し21へ導くことができた(図7)。今回、分 液操作のみで出発原料25aから最終生成物leiocarpanine A (21)を含有した分画を得ることでき、 カラムクロマトグラフィーによる精製過程は最終工程のみで非対称ジピロール誘導体21を簡便 に合成することが可能となった。



A//ium 属(ネギ属)植物を素材とした環状含硫黄化合物の探索研究⁷⁻⁹

図8. Allium 属植物含有アミノ酸から酵素反応によって生成する含硫黄化合物

Allium 属(ネギ属)植物は、世界中で古くから食品としてだけでなく疾病治療を目的とし用い られてきた。その種の数も多く、ニンニク(*A. sativum*)、タマネギ(*A. cepa*)、ネギ(*A. fistulosum*)な ど現在までに約 800 種が知られている。*Allium* 属植物はアリインやイソアリインなどの含硫黄ア ミノ酸(システインスルホキシド)を有していることで知られる。それらの成分は植物組織が破 壊されると、別の細胞に貯蔵されていたアリイナーゼなどの分解酵素によりスルフェン酸、アリ シン類へと変換され、続く多段階の化学反応や酵素反応を介して揮発性のスルフィド類へと誘導 される(図 8)。また、アリシンには、抗がん作用、抗菌、抗酸化作用といった様々な生物活性が 報告されている。アリシンから誘導されたスルフィド類(アホエンなど)は、微生物などの外敵 に対する防御物質であると考えられているが、揮発性であるばかりでなく水溶液中で不安定な場 合が多い。そのため、Allium 属植物を素材とした安定な含硫黄低分子化合物の単離は、高い生物 活性が期待されているにも関わらず、これまでに野原教授らや Kubec 教授らによって報告されて いる化合物以外ほとんどない^{10,11}。著者らは、Allium 属植物から薬学的に有用であり稀有な骨格 を有する含硫黄化合物の探索を目的として、ネギ (A. fistulosum) 葉部、ニンニク (A. sativum) 葉部、 アサツキ (A. schoenoprasum var. foliosum) 葉部およびニラ (A. tuberosum) 葉部に着目し、スルフェン 酸類から誘導される含硫黄化合物の単離とその化学構造の解明研究を行った。

4-1. *A*//*ium* 属植物葉部 [ネギ(A. fistu/osum)、ニンニク(A. sativum)、アサツキ(A. schoenoprasum var. fo/iosum) およびニラ(A. tuberosum)] を素材とした含硫黄成分の探索



図 9. Allium 属植物から得られた含硫黄化合物

ネギ (A. fistulosum) はヒガンバナ科の植物であり、中国西部や中央アジアを原産とし広く食用 として栽培されている。その葉部は、葱白という名の生薬として風邪や下痢などの諸症状に民間 療法的に用いられてきた。著者らはネギ由来のスルフェン酸から誘導される安定な化合物の単離 を目的とし、抽出時間、抽出溶媒、植物原料の加工を検討した。例として、京都府産九条ネギ (A. fistulosum 'Kujou')を水、メタノール、エタノール、アセトン、含水アセトンとともに裁断 後、室温条件下において、1、12、24、48、72時間抽出し、各抽出エキスを作成した。得られた 抽出エキスを酢酸エチルおよび水を用いて液液分配を行った後に酢酸エチル分画において HPLC を用いてパターン分析を行った。その結果、アセトンを用いて抽出したものが、相対的に抽出効 率がよく、経時的に成分の変化が認められた。検討の結果より、京都府産九条ネギ葉部をミキサ ーで裁断しアセトンを用いて室温条件下で抽出し、アセトン抽出エキスを得たのちに酢酸エチル および水を用いて液液分配を行った。その後、各種カラムクロマトグラフィーおよび HPLC に付 し、構造中に多環構造を有する稀有な含硫黄化合物 kujounin A1-3 (26-28) および B1-3 (29-31)、ま た、単環状のテトラヒドロチオフェン骨格を有する含硫黄化合物 allium sulfoxide A1-3 (32-34) な ど計9種類の新規化合物を得た。得られた化合物の構造は各種スペクトルの詳細な解析によりそ の相対立体配置を決定した。Kujounin A₁(26) および allium sulfoxide A₁(32) に関しては、 X 線単 結晶構造解析によりその絶対立体配置を決定した。化合物 26 はテトラヒドロジフロフラノン骨 格を母核に有し、Allium 属植物特有の硫黄原子を含む構造であることが明らかになった(図 9)。得られた kujounin 類の生成経路として、植物が含有するアミノ酸イソアリインがアリイナ ーゼによって 1-propenyl-1-propene-thiosulfinate へと変換される。次に、1-propene sulfenic acid を 経て、含有するアスコルビン酸誘導体と反応後、多段階の環化反応、ジスルフィド結合の形成に よって生成するものであると考察した。

次に、Allium 属植物の種による成分比較を行うため、高知県産ニンニク(A. sativum) 葉部、福 島県産アサツキ(A. schoenoprasum var. foliosum) 葉部および高知県産ニラ(A. tuberosum) 葉部を素 材とし含硫黄化合物の単離を行った。その結果、ニンニク葉部からは、九条ネギ(A. fistulosum 'Kujou') と同様にテトラヒドロジフロフラノン骨格を有する5種の含硫黄化合物35-39 が得られ た。一方で、アサツキ葉部からは40 などの4種のテトラヒドロチオフェン骨格を有する化合物 が、ニラ葉部からは41 などの直鎖状の含硫黄化合物が得られた。これらの結果から、種によっ て得られる主要な含硫黄化合物の基本骨格に違いがあることが明らかになった。

5. おわりに

著者らはキンポウゲ科クロタネソウ (N. damascena)、トウダイグサ科ヤマアイ (M. leiocarpa) お よび種々の Allium 属植物葉部 [ネギ (A. fistulosum)、ニンニク (A. sativum)、アサツキ (A. schoenoprasum var. foliosum) およびニラ (A. tuberosum)] を素材として、イソキサゾリジノン、ドラ ベラン型ジテルペンアルカロイド、非対称ジピロール誘導体、テトラヒドロジフロフラノンある いはテトラヒドロチオフェン骨格を有する含硫黄化合物等の稀有な化合物を見出すことができた。 本研究で得られた結果は、創薬のおいて重要である含窒素・含硫黄化合物のライブラリー構築に おいて貢献できると考えている。

6. 謝辞

本研究の一部は公益財団法人篷庵社から4年間にわたりいただいた研究助成によるものです。 ここに厚く御礼を申し上げます。また、ご推薦を賜りました大阪大学名誉教授小林資正先生に 心より御礼を申し上げます。

本研究は、京都薬科大学生薬学分野で行われたものです。ご指導いただきました京都薬科大学 名誉教授 吉川雅之先生、京都薬科大学教授 松田久司先生に心より御礼を申し上げます。また、 共同研究者の京都薬科大学 中嶋聡一先生をはじめ当研究室に在籍した大学院生・学生および現 在在籍している大学院生・学生の諸氏に厚く御礼を申し上げます。

研究素材として九条ねぎを提供して頂いた農業生産法人こと京都株式会社様に深謝致します。

7. 参考文献

- 1. H. Matsuda, S. Nakamura, T. Morikawa, O. Muraoka, M. Yoshikawa. J. Nat. Med., 2016, 70, 689-701.
- 2. K. Ogawa, S. Nakamura, Y. Asada, M. Yamashita, H. Matsuda. *Tetrahedron*. 2017, 73, 7054–7060.
- K. Ogawa, S. Nakamura, K. Hosokawa, H. Ishimaru, N. Saito, K. Ryu, M. Fujimuro, S. Nakashima, H. Matsuda. J. Nat. Med. 2018, 72, 439–447.
- T. Morikawa, F. Xu, Y. Kashima, H. Matsuda, K. Ninomiya, M. Yoshikawa. Org. Lett., 2004, 70, 869– 872.
- P. Lorenz, J. Conrad, S. Duckstein, D. R. Kammerer, F. C. Stintzing. *Helv Chim Acta*, 2014, 97, 1606– 1623.
- P. Lorenz, M. Hradecky, M. Berger, J. Bertrams, U. Meyer, F. C. Stintzing. *Phytochem. Anal.*, 2010, 21, 234–245.
- M. Fukaya, S. Nakamura, R. Nakagawa, S. Nakashima, M. Yamashita, H. Matsuda. Org. Lett. 2018, 20, 28-31.
- M. Fukaya, S. Nakamura, Y. Kyoku, S. Nakashima, T. Yoneda, H. Matsuda. *Phytochem. Lett.* 2019, 72, 125–128.
- M. Fukaya, S. Nakamura, R. Nakagawa, M. Kinka, S. Nakashima, H. Matsuda. J. Nat. Med. 2019, 73, 397–403.
- T. Nohara, M. Ono, N. Nishioka, F. Masuda, Y. Fujiwara, T. Ikeda, D. Nakano, J. Kinjo. *J. Nat. Med.*, 2018, 72, 335–341.
- 11. R. Kubec, I. Stefanova, M. Moos, P. Urajova, M. Kuzma, J. Zapal. J. Agric. Food Chem., 2018, 66, 8783–8794.

神経細胞内ミトコンドリアの局在制御とその破綻による神経変性のメカニズム

首都大学東京理学部生命科学科

准教授

安藤 香奈絵

認知、情動、創造、運動などの高次機能は、脳神経細胞のネットワークによっ て担われている。この脳神経細胞のほとんどは、一度形成されたのちは生涯入 れ替わらない。アルツハイマー病などの疾患は、神経細胞死を起こすことで認 知症の原因となり、それらの神経変性疾患のリスクは加齢によって増加する。 しかし現在のところ、加齢による脳機能の低下や神経変性疾患の発症メカニズ ム、根本的な治療法は明らかになっていない。私は、加齢や神経変性疾患によ って脳神経細胞の機能や構造が失われるメカニズムを、ミトコンドリアに注目 して研究した。

ミトコンドリアはほぼすべての細胞で、エネルギー供給の大部分を担い、また、 核酸合成、脂質、鉄、尿素の代謝、シグナリングなど、重要な機能をもつ (Schon and Przedborski, 2011)。体内でも脳はミトコンドリアを特に必要とする器官の 一つである。脳神経細胞は情報伝達のために特化した形態をもち、標的の細胞 まで長い軸索を伸ばし、その末端でシナプスと呼ばれる構造を作って情報を送 る。シナプスでの情報伝達に必要な小胞輸送や膜電位維持のため、エネルギー 供給やカルシウムイオン濃度調節をシナプスにあるミトコンドリアが行うこと が必要となる。それらの局所的な需要を満たすため、ミトコンドリアは神経細 胞の隅々まで能動的に輸送されている。神経細胞の軸索は長く、細胞体の直径 わずか数μm に対して千倍以上の長さをもつものもある。細胞体から軸索終末 へ、また軸索終末から細胞体への輸送は、微小管とモーターを介した能動輸送 によって行われる (Misgeld and Schwarz, 2017)。 ミトコンドリアはアダプター タンパク質 Miro と milton によってモータータンパク質に結合し、微小管上を 細胞体からシナプスへ運ばれる。また、ダメージを受けたミトコンドリアは、 細胞体に逆行輸送され、マイトファジーと呼ばれる仕組みにより分解される (Misgeld and Schwarz, 2017)_{\circ}

脳の機能にミトコンドリアが必要であることは、遺伝的なミトコンドリア異常 によっておきるミトコンドリア病の多くが、神経症状を伴うことからも示され る (Schon and Przedborski, 2011)。また、細胞全体でミトコンドリアの数や機 能が低下しなくても、その輸送や局在に異常がおきるだけで神経細胞の機能が 阻害されることが明らかになってきた (Schon and Przedborski, 2011)。ミトコ ンドリア輸送に関わる一群の分子が同定されるにつれ、それらをコードする遺 伝子の多くの変異がパーキンソン病や筋萎縮性側索硬化症、シャルコー・マリ ー・トゥース病など、神経変性疾患の原因であることがわかった。加齢や疾患 により、軸索輸送の効率は低下し、また異常なミトコンドリアを除く機能も阻 害される (Misgeld and Schwarz, 2017)。これらの知見から、ミトコンドリアの 輸送や局在の異常が、老年性神経変性疾患の発症機構に関わることが考えられ る。本研究では、ミトコンドリアの局在異常と、加齢による脳機能の低下や神 経変性疾患のリスクの増加との関係、またその分子メカニズムの解明を目的と した。

<u>ミトコンドリアの神経軸索への局在の脳機能における役割を調べるため</u> のモデルショウジョウバエの確立

ミトコンドリアの神経細胞内局在が加齢や疾患による脳の機能や構造の変化に 果たす役割を調べるためには、脳研究、加齢研究に適した動物モデルが必要と なる。私はモデルシステムとしてショウジョウバエを選んだ。ショウジョウバ エはモデル動物として1世紀以上にわたって多くの分野で生命科学に貢献して きた。ショウジョウバエの最大の魅力は、これまでに作成されてきた飛び道具 とも言えるような遺伝学的ツールが数多く蓄積していることにある。これらを 用いれば、ほぼ全ての遺伝子について組織特異的・時期特異的にその機能を解 析することが可能である。またショウジョウバエの生活環は短く、成虫になる までに約2週間、そして寿命を全うするまで2・3ヶ月である。このことは、加 齢の研究には非常に都合が良い。またショウジョウバエは、神経科学の研究に 適している。複雑な構造をもつ脳があり、知覚、学習・記憶や摂食制御、運動 制御など、多様な脳機能を担う領域や回路が同定され、神経伝達物質や受容体、 細胞内経路など、ヒトと同じ神経伝達の仕組みを使っている。ショウジョウバ エとヒトの間では、ヒトの疾患に関わる遺伝子の70%以上についてショウジョ ウバエのホモログ遺伝子が同定され、またそれらに関わる細胞内シグナリング 経路もほぼ保存されている(Fortini and Bonini, 2000)。これらの特徴から、ショウジョウバエの神経変性疾患モデルが多く作成され、それらから得られた発見は複雑な神経変性疾患の発症機構の理解に貢献してきた(Iijima-Ando and Iijima, 2009)。

ミトコンドリアの輸送に関わる重要な発見のいくつかはショウジョウバエでな された。ミトコンドリアとモータータンパク質を接続するアダプタータンパク 質 Miro と milton はショウジョウバエで発見され、そのホモログがヒトを含め 多くの動物種で同様の機能を果たしていることがわかった (Stowers et al., 2002)。milton はミトコンドリアの輸送に必須だが、モータータンパク質や軸索 輸送自体には影響しないので、欠損しても他の細胞小器官や小胞などの軸索輸 送は阻害されない。私たちは、milton を神経細胞特異的にノックダウンするこ とで、ミトコンドリアの数をシナプスから減少させ、その脳機能と構造への影 響を調べた((Iijima Ando et al., 2012), 図 1A)。これらのショウジョウバエは 正常に発生し、若年(羽化後数日)では脳の構造に以上はなく、行動にも差は 見られなかった。興味深いことに、これらのショウジョウバエでは加齢に伴い 神経機能が低下し、神経細胞死が起きた((Iijima-Ando et al., 2009; Iijima-Ando et al., 2012), 図 1B)。さらにこのショウジョウバエの神経細胞は、 アルツハイマー病関連タンパク質タウの毒性への脆弱性が劇的に増加していた ((Iijima-Ando et al., 2012), 図 1C)。これら、軸索ミトコンドリアの減少によっ て引き起こされる神経機能低下や神経変性疾患に対する脆弱性の分子メカニズ ムについて、これまでの発見を以下に述べる。



図 1. ミトコンドリアを神経軸索から欠乏させたショウジョウバエ。(A) ミトコンドリア輸送の アダプタータンパク質 milton または Miro をノックダウンすることで、軸索からミトコンドリ アを欠乏させる。(B) 軸索からミトコンドリアが欠乏すると、加齢依存的に神経変性が起きた (矢印)。(C) 軸索からミトコンドリアが欠乏すると、神経変性疾患関連タンパク質タウによ る神経変性が悪化した。神経軸索にできた空胞を*で示す(Iijima-Ando et al., 2012)。

ミトコンドリア分布と神経細胞内タンパク質恒常性の関係

タンパク質は必要な量作成され、不要なタンパク質やダメージをうけたタンパ ク質は分解される (Klaips et al., 2018)。異常なタンパク質が過剰に生成したり、 不要なタンパク質の分解が滞ると、細胞内に異常タンパク質が蓄積してしまう。 タンパク質の産生と分解の調節、すなわちタンパク質恒常性は、加齢に伴って 低下することが知られている。細胞内の不要なタンパク質の分解はプロテアソ ームやオートファジーによって担われ、これらの機能は加齢に伴って低下する (Klaips et al., 2018)。多くの神経変性疾患では、異常タンパク質の蓄積が見ら れ、それが神経細胞死の原因になると考えられている。タンパク質分解系の活 性化により、加齢による脳機能の低下が抑制され、また疾患モデルでの神経変 性が抑えられることから、タンパク質恒常性の破綻が神経機能の低下や神経細 胞死の原因となることが示唆されている (Klaips et al., 2018)。

私たちは、ミトコンドリアの局在変化がタンパク質恒常性を低下させることを 見出した。加齢した個体の脳では、分解されるべきタンパク質がユビキチンに より標識されたまま蓄積している。ミトコンドリアを軸索から減少させたショ ウジョウバエでは、このユビキチン化タンパク質の蓄積が、若齢時から見られ た(図 2A、Shinno et al., 論文投稿準備中)。ミトコンドリアを軸索から減少さ せたショウジョウバエを加齢させ、その脳を電子顕微鏡で解析すると、異常な タンパク質の蓄積を示唆する dense material が見られた(図 2B、Shinno et al., 論文投稿準備中)。また、これらの個体では、オートファジーによるタンパク分 解効率も低下していることがわかった(Shinno et al., 論文投稿準備中)。



図 2. 軸索ミトコンドリアの欠乏により、神経細胞のタンパク質分解機能が低下する。(A) 神経 軸索からミトコンドリアを欠乏させると、ユビキチン化されたタンパク質が蓄積している。ユ ビキチンに対する抗体で染色(赤)したショウジョウバエの脳。神経細胞は GFP(緑)で標識して いる。羽化後14日目。右にユビキチン化タンパク質のシグナルを定量したグラフを示す。(B) ミトコンドリアを欠乏させた視細胞のシナプス前終末の電子顕微鏡写真。中心に dense material がみられる。羽化後25日目 (Shinno et al., 論文投稿準備中)。

これらより、加齢や疾患によってミトコンドリアの軸索輸送が低下すると、タ ンパク質恒常性の破綻につながることが示唆された。現在、ミトコンドリア分 布の変化とタンパク質分解系を結ぶ分子メカニズムを探索中である。また、次 章でさらに述べるように、ミトコンドリアの軸索輸送の阻害によって、疾患モ デルでの神経細胞死が悪化するが、そのメカニズムとどう関わるのかについて も、研究を進めている。

ミトコンドリアの軸索分布とタウ毒性の関係

アルツハイマー病や前頭側頭葉認知症など多くの神経変性疾患患者の脳では、 神経原繊維変化と呼ばれる特徴的な病変が見られ、その主成分はタウと呼ばれ るタンパク質である (Ballatore et al., 2007)。タウは微小管結合タンパク質で、 通常は主に神経軸索に分布し、微小管の安定性を制御している。しかし、疾患 脳では、タウは微小管から離れ、異常なリン酸化をうけ、凝集して沈着してい る。遺伝学的、生化学的、また動物モデルを用いた解析から、タウタンパク質 の異常とその蓄積は神経細胞死を引き起こすのに十分であることが知られてい る (Ballatore et al., 2007)。

私たちは、ミトコンドリアが軸索から減少すると、タウの毒性が劇的に悪化す

ることを見出した((Iijima-Ando et al., 2012)、Fig. 1C)。ヒトのタウをショウ ジョウバエの脳神経細胞または視細胞に発現させると、軸索の変性と神経細胞 死が起き、加齢依存的に悪化する。ミトコンドリアを軸索から減少させた視細 胞にタウを発現させると、さらに激しい軸索変性が起きた((Iijima-Ando et al., 2012)、Fig.1C)。

ミトコンドリアが軸索から減少するとなぜタウの毒性が悪化するのだろうか。 タウは、疾患脳では多くの部位で過剰にリン酸化を受けている。私たちはタウ の疾患関連リン酸化が、ミトコンドリアの軸索からの減少により変化するかを 調べた。その結果、微小管結合領域に存在する Ser262 のリン酸化が増加してい た。この部位でのタウのリン酸化が起きないようにアミノ酸を置換したタウで は、ミトコンドリアを軸索から減少させてもその毒性が悪化することはなかっ た。このことから、ミトコンドリアが軸索から減少すると、タウの異常リン酸 化が起き、そのためにタウの毒性が悪化することが示された(lijima-Ando et al., 2012)。

タウのこの部位でのリン酸化は、主に Par-1/MARK というリン酸化酵素によっ て担われている。Par-1/MARK は、ショウジョウバエの Par-1、哺乳類の Microtubule affinity regulating kinase (MARK)を含む、多くの生物種で保存さ れたキナーゼファミリーを形成する。細胞極性の確立や微小管の制御に関わり、 ヒトではアルツハイマー病への遺伝学的な関連が示唆されている (Wang and Mandelkow, 2016)。私たちは、ミトコンドリアが神経軸索から減少すると、 Par-1の活性が増加することを見出した。また、Par-1をノックダウンした条件 下では、ミトコンドリアが神経軸索から減少しても、タウの毒性が悪化するこ とはなかった。これらより、ミトコンドリアが神経軸索から減少すると、Par-1 の異常な活性化が起き、それによるタウの異常リン酸化のために、神経細胞死 が悪化することがわかった (Iijima-Ando et al., 2012)。

ではこのリン酸化はなぜタウの毒性を悪化させるのだろうか。私たちは、Par-1 の活性が上昇すると、Ser262 と同じく微小管結合領域に存在するリン酸化部位 Ser356 のリン酸化が増加し、タウの蓄積が起きることを見出した(Ando et al., 2016a; Ando et al., 2016b; Iijima-Ando et al., 2012)。タウは微小管に結合して いる状態または細胞質に遊離している状態で存在するが、これらのリン酸化に より、微小管から離れたタウが蓄積する (Ando et al., 2016a)。タウの蓄積は 神経細胞死を引き起こすのに十分であるので、Par-1 はリン酸化タウを増加させ ることでタウによる神経細胞死を悪化させていると考えられる。

それだけではない可能性もある。Par-1/MARK は、オートファジーを制御する ことが報告されている (Li and Guan, 2013)。ミトコンドリアの分布の変化に よる Par-1/MARK の活性上昇は、タウのリン酸化を直接増加させる以外にも、 タンパク質分解系にも作用することで、相乗的に異常タンパク質の毒性を悪化 させている可能性もある。前章で述べた加齢によるタンパク質恒常性低下にお いても、ミトコンドリアが Par-1/MARK 活性に与える影響が関わっている可能 性が考えられる。これも今後の研究課題のひとつである。

<u>加齢に伴って起きる神経細胞のエネルギー代謝変化とミトコンドリア局</u> 在の関係

ミトコンドリアは細胞内のエネルギー通貨である ATP の大部分を産生する。加 齢によって、軸索輸送は低下し、またミトコンドリアに遺伝子変異などのダメ ージが蓄積する (Jang et al., 2018)。脳の加齢による機能の低下は、神経細胞に おけるミトコンドリアの輸送や機能の低下による ATP の欠乏によるものなのか。 私たちは、ATP の量の変化を、特に軸索など局所的な変化に注目して調べた。

脳神経細胞内での ATP の分布を調べるため、ATP バイオセンサー(Tsuyama et al., 2013)を神経細胞に発現させ、脳のイメージングによって ATP 量を検出 した。このバイオセンサーは、FRET を利用して ATP の量を蛍光で検出するも ので、ATP に結合すると構造が変化し、新たな波長で蛍光を発する。ショウジ ョウバエの脳のなかでキノコ体と呼ばれる領域は、学習・記憶を担うことで知 られ、構造上、細胞体、樹状突起、軸索の領域が同定しやすい。この領域に注 目し、それぞれの部位で、加齢による ATP 量の変化を調べた。

まず軸索終末でのミトコンドリアの数を電子顕微鏡解析により調べると、加齢 によってわずかにではあるが有意に減少していた(図 3A.、Oka et al., 論文投 稿準備中)。しかし、軸索での ATP の量は、加齢しても減少しないことがわか った(図 3B.、Oka et al., 論文投稿準備中)。一方、milton のノックダウンによ りミトコンドリアを軸索から欠乏させると、軸索で ATP が減少した(図 3C.、 Oka et al., 論文投稿準備中)。すなわち、神経軸索へのミトコンドリア分布は軸 索での ATP 量の維持に必須であり、またミトコンドリアの数の低下が ATP に 影響を与える閾値があることが明らかになった。



図 3. 脳神経細胞内ミトコンドリア分布 と ATP の加齢に伴う変化。(A-B)神経 軸索でのミトコンドリアの数は加齢に 伴って減少する(A)が、ATP の量は減 少しない(B)。ATP バイオセンサーを発 現させたショウジョウバエの羽化後5 日、50日の脳と、定量した値。(C) milton ノックダウンによりミトコンド リアをさらに減少させると、ATP が減少 する。(Oka *et al.*, 論文投稿準備中)

これらの結果から、通常の脳老化と、疾患における変化の違いが、軸索ミトコ ンドリアの分布にあることが考えられる。通常の加齢では、軸索で機能するミ トコンドリアの分布は減少しつつあるものの ATP 量に影響するほどではなく、 そのため神経細胞の構造が保たれている。一方、疾患においては、疾患の引き 金となる遺伝的、環境的な要因が軸索へ分布するミトコンドリアの数や機能を 閾値以上に減少させることで、シグナリングの乱れやタンパク質恒常性の低下 の加速などを引き起こし、その他の発症要因と相乗的に、神経細胞の脆弱性を 高めると考えられる(図 4)。



図4. ミトコンドリアの神経軸索への分布と加齢、疾患、神経細胞死の関係

<u>終わりに</u>

脳の機能を生涯維持し、神経変性疾患から脳を守ることは、高齢化の進む現代 社会の喫緊の課題である。しかし、脳の老化や老年性神経変性疾患の発症機構 には、様々な遺伝的・環境的要因が絡み合い、発症に関わる細胞内変化を同定 し、さらにそれらの関係を明らかにするのは難しい。本研究では、ショウジョ ウバエというシンプルなモデル系を用いることで、ミトコンドリアの神経細胞 内分布と脳老化の関係、またミトコンドリアの軸索分布の変化が異常タンパク 質の毒性を悪化させる分子メカニズムの一部が明らかになった。今後これらの 知見をさらに発展させ、老化による認知機能低下や認知症のリスク増加に対す る根本的な予防・治療のための創薬標的の同定を目指す。

謝辞

本研究に助成いただきました公益財団法人篷庵社、またご推薦いただきました 桐野豊先生に、心から御礼申し上げます。

参考文献

Ando, K., Maruko-Otake, A., Ohtake, Y., Hayashishita, M., Sekiya, M., and Iijima, K.M. (2016a). Stabilization of Microtubule-Unbound Tau via Tau Phosphorylation at Ser262/356 by Par-1/MARK Contributes to Augmentation of AD-Related Phosphorylation and Abeta42-Induced Tau Toxicity. PLoS Genet *12*, e1005917.

Ando, K., Oka, M., Ohtake, Y., Hayashishita, M., Shimizu, S., Hisanaga, S., and Iijima, K.M. (2016b).

Tau phosphorylation at Alzheimer's disease-related Ser356 contributes to tau stabilization when PAR-1/MARK activity is elevated. Biochem Biophys Res Commun 478, 929-934.

Ballatore, C., Lee, V.M., and Trojanowski, J.Q. (2007). Tau-mediated neurodegeneration in Alzheimer's disease and related disorders. Nat Rev Neurosci *8*, 663-672.

Fortini, M.E., and Bonini, N.M. (2000). Modeling human neurodegenerative diseases in Drosophila: on a wing and a prayer. Trends Genet *16*, 161-167.

Iijima-Ando, K., Hearn, S.A., Shenton, C., Gatt, A., Zhao, L., and Iijima, K. (2009). Mitochondrial Mislocalization Underlies Aβ42-Induced Neuronal Dysfunction in a Drosophila Model of Alzheimer's Disease. PLoS ONE *4*, e8310.

Iijima-Ando, K., and Iijima, K. (2009). Transgenic Drosophila models of Alzheimer's disease and tauopathies. Brain Struct Funct *DOI 10.1007/s00429-009-0234-4*.

Iijima-Ando, K., Sekiya, M., Maruko-Otake, A., Ohtake, Y., Suzuki, E., Lu, B., and Iijima, K.M. (2012). Loss of Axonal Mitochondria Promotes Tau-Mediated Neurodegeneration and Alzheimer's Disease-Related Tau Phosphorylation Via PAR-1. PLoS Genet 8, e1002918.

Jang, J.Y., Blum, A., Liu, J., and Finkel, T. (2018). The role of mitochondria in aging. J Clin Invest *128*, 3662-3670.

Klaips, C.L., Jayaraj, G.G., and Hartl, F.U. (2018). Pathways of cellular proteostasis in aging and disease. J Cell Biol 217, 51-63.

Li, L., and Guan, K.L. (2013). Microtubule-associated protein/microtubule affinity-regulating kinase 4 (MARK4) is a negative regulator of the mammalian target of rapamycin complex 1 (mTORC1). J Biol Chem 288, 703-708.

Misgeld, T., and Schwarz, T.L. (2017). Mitostasis in Neurons: Maintaining Mitochondria in an Extended Cellular Architecture. Neuron *96*, 651-666.

Schon, E.A., and Przedborski, S. (2011). Mitochondria: the next (neurode)generation. Neuron 70, 1033-1053.

Stowers, R.S., Megeath, L.J., Gorska-Andrzejak, J., Meinertzhagen, I.A., and Schwarz, T.L. (2002). Axonal transport of mitochondria to synapses depends on milton, a novel Drosophila protein. Neuron *36*, 1063-1077.

Tsuyama, T., Kishikawa, J., Han, Y.W., Harada, Y., Tsubouchi, A., Noji, H., Kakizuka, A., Yokoyama, K., Uemura, T., and Imamura, H. (2013). In vivo fluorescent adenosine 5'-triphosphate (ATP) imaging of Drosophila melanogaster and Caenorhabditis elegans by using a genetically encoded fluorescent ATP biosensor optimized for low temperatures. Anal Chem *85*, 7889-7896.

Wang, Y., and Mandelkow, E. (2016). Tau in physiology and pathology. Nat Rev Neurosci 17, 5-21.

糖尿病病態因子による幹細胞機能障害の同定

- MicroRNA-494 によるヒト骨格筋細胞分化への影響 -

鳥取大学医学部 薬理学・薬物療法学教室 鳥取大学医学部附属病院 薬物療法内科 今村 武史

統合的戦略に基づく新規 PPI 阻害剤の創製

立命館大学薬学部 古徳直之

グリーンケミストリーを指向した新規触媒の開発と応用

富山大学大学院医学薬学研究部 (薬学) 矢倉隆之

はじめに

化学の発展は人類に多大な物質的恩恵を与えたが,経済面を優先し,環境への影響を軽視した ため,残念ながら,化学は「悪」であるかのように扱われた時期があった。近年,グリーンケミ ストリーと呼ばれる「環境に優しい,環境に負荷をかけない化学」に注目が集まり,それを達成 するための環境調和型反応の開発が盛んに行われている。環境調和型反応とは,安全で毒性のな い薬品や触媒,溶媒を用いて,室温,大気中で実施でき,廃棄物や副生物をほとんど出さない反 応のことである。グリーンケミストリーの発展は化学の「悪」の面を払しょくしてくれる鍵とし て期待されている。

最も基本的な有機反応の一つである酸化反応では、これまで有害なクロムや鉛、水銀、マンガ ンなどの重金属を含む酸化剤が一般的に用いられてきた。超原子価ヨウ素化合物は毒性が低く、 取扱いが容易であるため、30年程前より、重金属酸化剤に代わる酸化剤として注目されてきたが、 最近はこれら独自の新反応が次々と開発され、現在の有機合成化学において無くてはならない反 応剤となっている。¹⁾ 代表的な超原子価ヨウ素化合物として、ヨードベンゼンジアセタート(PIDA)、 ヨードベンゼンビス(トリフルオロアセタート)(PIFA)、Dess-Martin ペルヨージナン(DMP)、 2-ヨードキシ安息香酸(IBX)などがよく用いられている(Fig. 1)。しかしながら、超原子価ヨ ウ素化合物使用への転換もグリーンケミストリーの観点からはまだまだ環境調和型とは言い難い。 なぜなら、これらを用いる反応は化学量論反応であり、反応終了後、基質と当量の有機ヨウ素化 合物が副生し、廃棄物となるからである。また、超原子価ヨウ素化合物は高価であるとともに、 潜在的な爆発性を持っていることも問題として挙げられる。



Fig. 1. Representative hypervalent iodine compounds.

これらの問題の解決策一つとして,超原子価ヨウ素化合物の触媒化がある(Scheme 1)。²⁾この 方法では,酸化反応後に副生する有機ヨウ素化合物を他の共存する環境への負荷のより小さな酸 化剤により再び超原子価へ酸化して反応に用いるため,用いられるヨウ素化合物は最小量に抑え られ,分離や廃棄が簡便となる。2005,2006年になって*m*-クロロ過安息香酸(*m*CPBA)³⁻⁵⁾あるい は無機酸化剤であるオキソン(2KHSO₅•KHSO₄•K₂SO₄)⁶⁷⁾を用いて系内でそれぞれ3価あるいは5 価のヨウ素を発生させる触媒的超原子価ヨウ素酸化反応が相次いで報告された。我々の研究室で も効率的で安全な触媒反応の開発を目指し、2つの新しいヨードベンゼン型触媒系を開発した(Fig. 3)。1)4-ヨードフェノキシ酢酸(4-iodophenoxyacetic acid, IPAA) ーオキソン: *p*-置換フェノー ル類の触媒的超原子価ヨウ素酸化反応(4-アルコキシフェノールの*p*-キノンへの酸化、⁸⁾4アルキ ルフェノールの*p*-キノールへの酸化、^{9,10)}*p*-ジアルコキシベンゼンの*p*-キノンへの酸化^{10,11)})。本 方法の特長は、オキソンが水に可溶で毒性が少なく、安価で廃棄が容易であること、触媒の IPAA が市販されており、アルカリ水溶液に可溶であること、反応が室温で進行し、操作が簡便である という点である。2)ヨードベンゼン・2,2,6,6-Tetramethylpiperidine-1-oxyl (TEMPO)複合触媒 (IB-TEMPO) ー過酢酸¹²⁾: アルコール類の酸化。この触媒系では、過酢酸によりヨードベンゼ ン部が酸化されて超原子価ヨウ素種となり、生成した超原子価ヨウ素部分が TEMPO のヒドロキ シルアミン部をオキソアンモニウムカチオンへと酸化し、これがアルコールを酸化するという新 しい触媒系である。我々はさらに有用で環境調和性の高い触媒創製を目指して検討を続け、*o*-ヨ



ードベンズアミド触媒¹³⁻¹⁶⁾ さらに磁性鉄ナノ粒子担持触媒¹⁷⁾を開発できたので,以下に述べる。

Scheme 1. Catalytic hypervalent iodine system.

Fig. 2. New catalysts for oxidation.

o-ヨードベンズアミド触媒:室温で進行するアルコール類のカルボニル化合物への酸化 1.1 第一級および第二級アルコールの酸化^{13,14)}

アルコールの酸化反応においては、Vinod ら⁶⁰ や Giannis ら⁷⁾ による先駆的な 2-ヨード安息香 酸の触媒的利用が報告されている。彼らは触媒量の 2-ヨード安息香酸をオキソンと 70 ℃で加熱し て、5 価の超原子価ヨウ素種を発生させている。その後、三浦ら¹⁸⁾ はフルオラス化による触媒の 回収効率の向上を報告し、Moorthy ら¹⁹⁾ はテトラメチル化や二量化により室温での酸化反応を達 成した。また、石原らは 2-ヨードベンゼンスルホン酸²⁰⁾ が 2-ヨード安息香酸よりもその触媒活性 が優れていることを明らかにした(Fig. 3)。このように、ヨードベンゼンのベンゼン環上の置換 基が酸化触媒としての反応性に大きな影響を及ぼすことが明らかであるため、我々はより簡便に 調製が可能でかつ室温で反応が進行する触媒の創製を目指した。



Fig. 3. Examples of iodoarene catalysts for alcohol oxidation.

我々は 2-ヨード安息香酸から容易に調製できるエステルおよびアミドのオキソン共存下での反応性を検討した。エステルやアミドでは種々のアルコールやアミンを用いることにより様々な誘導体が合成できるため、複数の機能を持った触媒の設計が容易になると考えたからである。種々のエステルやアミドを用いたベンズヒドロール(1a)からベンゾフェノン(2a)への酸化反応の結果を Table 1 に示す。反応条件は三浦らの触媒的アルコール酸化条件(ニトロメタンー水(8:3)の混合溶媒中,70 ℃)¹⁸⁾を用いた。フェノール酸化で効果的であった IPAA を用いても反応は全く進行しなかったが、2-ヨード安息香酸誘導体では酸化反応が進行した。エステル、アミド類では、イソプロピル 2-ヨード安息香酸医学ド(*N*-isopropyl-2-iodobenzamide, IBamide)が最も有効であることがわかったが、その反応性は 2-ヨード安息香酸よりも低かった(Table 1)。しかし、室温での反応性を調べると、驚くべきことに 2-ヨード安息香酸より IBamide を用いると短時間で反応が終了し、さらにベンゼン環上の置換基効果を調べると、ヨウ素原子のパラ位にメトキシ基を持つもの(IBaOMe)が高活性であることがわかった(Table 2)。



そこで, 0.3 当量の **IBamide**¹³⁾ あるいは **IBaOMe**¹⁴⁾ と 2.5 当量のオキソン, 1 当量のアンモニウ ム塩を用いる条件を最適条件として反応の基質一般性を調べた(Table 3)。その結果, 第二級ア ルコールからは対応するケトンが収率よく得られた。第一級アルコールの酸化では,アルデヒド で反応は止まらずカルボン酸まで反応が進行した。また,用いた触媒は反応後,還元処理すると 効率良く回収できた。



IBamideを用いる触媒的酸化反応の反応機構はScheme 2 のように考えている。すなわち,オキ ソンとテトラブチルアンモニウム硫酸水素塩により生成した過硫酸アンモニウムが,まず1 価の ヨウ素を5 価の超原子価ヨウ素に酸化する。この5 価の超原子価ヨウ素がアルコールをケトンま たはアルデヒドへ酸化する。アルデヒドの場合は5 価の超原子価ヨウ素と過硫酸アンモニウムに さらに酸化され,カルボン酸を与える。反応後,ヨウ素自身は3 価に還元され,再び過硫酸アン モニウムによって5 価に酸化される。



Scheme 2. Plausible reaction mechanism for oxidation of alcohols catalyzed by IBamide.

1.2 テトラヒドロフラン-2-メタノール類の酸化的開裂^{15,16)}

テトラヒドロフラン-2-メタノールからラクトンへの変換は生物活性分子の合成にしばしば用い られている(Scheme 3)。直接的な酸化開裂はこれまでにいくつか報告例^{21,22)}があるものの,い ずれも過剰量のクロム酸化剤と高温が必要で、ラクトンの収率も良くない場合がある。そのため、 段階的にラクトンへと変換する方法がしばしば用いられる。²³⁾ 我々は、触媒量の 2-ヨードベンズ アミドを用いる酸化条件が室温でテトラヒドロフラン-2-メタノールからカルボン酸、さらにラク トンへと効率よく酸化できれば有用な変換反応となると考え、検討を開始した。



Scheme 3. Transformation of oxacyclic-2-methanols 3 to lactones 4.

5-ベンジルオキシメチルテトラヒドロフラン-2-メタノール 3a の酸化を検討した(Table 4) ところ, IBamide – オキソンと 60 時間反応させると,望みのラクトン 4a が収率 71%で得られた。しかし, IBamide の代わりに, 2-ヨード安息香酸を用いると,60 時間後でわずか 17%しか 4a は得られず,ヨウ素化合物を加えない場合は,反応は全く進行しなかった。オキソンの量を 5 等量に増加させて溶媒効果を調べると(Table 5),ニトロメタン中では高収率で 4a が得られた。DMF を用いた場合には反応が速くなり, IBamide の当量を 0.1 当量まで減らしても 25 時間で反応が完結した。

l able 4	 Oxidation of tetrahy in the presence of 	drofuran-2-metha	anol 3a to g-lactone emperature.	4a with iodoarene	Table 5	. Oxidation of 3a to	4a with IBamide-Oxone at r	oom tempera	ature.
BnO		iodoarene (1 Oxone, Bu₄NH	eq) SO₄ BnO	\square		20	IBamide Oxone (5 eq)	40	
:	Ba (cis/trans mix.)	MeNO ₂ -H ₂ O (room temperatu	8:3) ∎re, 60 h	4a		sar	solvent coom temperature	4d	
entry	iodoarene		Bu NHSO . (eg)	vield (%)	entry	solvent	IBamide (eq)	time (h)	yield (%)
Chuy	loddarene	Oxone (eq)	Bu41411004 (CQ)	yield (70)	1	MeNO ₂ -H ₂ O (8:3	3) 1	26	73
1	Bamide	2.5	1	71	2	MeNO ₂	1	24	81
2	2-iodobenzoic acid	2.5	1	17	3	DMF	1	9	73
3	none	2.5	1	no reaction	4	DMF	0.3	15	67
					5	DMF	0.1	25	63

しかし、反応時間が比較的長く、収率が 70%程度にとどまったこと、さらに生成物と触媒の分離が面倒であったことから、さらなる反応の効率化と分離の簡便さの向上を目指し、ベンゼン環上の置換基を検討した。IBaOMe と IPAA の結果を参考に、ヨウ素のパラ位に電子供与性で弱アルカリ性水溶液に可溶になるように、ヨウ素のパラ位にオキシ酢酸基を導入した IBaAA を合成し、さらに、収率の向上を目途に溶媒ならびに反応温度を見直すこととした(Table 6)。その結果、収率の良いニトロメタンと反応時間の短い DMF の混合溶媒とし、50 ℃ で反応させると、触媒量を 0.05 等量まで減じても 10 時間で反応が終了し、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液で洗浄するだ

けで触媒の分離が可能となり、90%で生成物を得ることができ、反応性の向上と分離精製操作の 簡素化が実現できた。本反応機構を考察するために、反応中間体として想定される 2-ヒドロキシ メチル基が酸化されたアルデヒド 5 およびカルボン酸 6 からの反応を試みた(Table 7)。その結 果、アルデヒドは1時間で反応は完結して 4a が得られる一方、カルボン酸は全く反応しなかった。 興味深いことに、IBamide を加えずにオキソンのみとアルデヒドを反応させた場合でも、1時間で 反応が完結して、4a が高収率で得られた。IBamide¹⁵⁾と IBaAA¹⁶⁾を用いた基質一般性を Table 8 に示した。

Table 6.	Oxidation of tetrahydrofuran-2-methanol 3b to γ -lactone 4b with iodoarene
	in the presence of Oxone at room temperature.

$HO_2C \bigcirc \bigcup_{HO_2C} HO_2C O_2C \bigcirc \bigcup_{HO_2C} HO_2C O_2C O_2C O_2C O_2C O_2C O_2C O_2C $						
	3b (cis/tra	<i>ns</i> mix.)				4b
entry	, IBaAA (eq)	Oxone (eq)	solvent	temp (°C)	time	yie l d (%)
1	0.3	5	DMF	rt	11	65
2	0.3	5	MeNO ₂	rt	60	86
3	0.3	5	MeNO ₂ -DMF (10:1)	rt	17	90
4	0.3	5	MeNO ₂ -DMF (10:1)	50	7	88
5	0.05	4	MeNO ₂ -DMF (10:1)	50	10	90
6	IBamide (0.3) 5	DMF	rt	22	73



Bn0 5: R=CH0 6: R=CO ₂ H		IBamide Oxone (5 eq) DMF room temperature	→ 4a	
entry	Substrare	IBamide (eq)	time (h)	yield (%)
1	5	1	1	77
2	6	1	24	NR
3	5	none	1	75





以上の結果から、本酸化開裂反応の機構を Scheme 4 のように考えている。オキソンと 1 価の IBamide から得られた 5 価の超原子価ヨウ素がテトラヒドロフラン-2-メタノール 3 をアルデヒド 5 へと酸化した後、オキソンにより速やかに酸化開裂を受け、カルボン酸 6 を経由することなく ラクトン 4 へと変換される。本反応はオキソンが共酸化剤としてだけでなくアルデヒドの酸化開 裂にも働く興味深い反応である。



Scheme 4. Plausible reaction mechanism for oxidation of tetrahydrofuran-2-methanols 3 catalyzed by IBamide.

1.3 テトラヒドロフラン-2-メタノール類の酸化的開裂の天然物合成への応用^{24,25)}

本酸化開裂反応を 1999 年に海洋シアノバクテリア Lyngbia majuscula から単離され,新規抗菌抗 生物質への利用が期待される(+)-tanikolide および類縁体の合成に応用した(Scheme 5)。2 価のロ ジウム触媒を用いる 2-ジアゾ-3-ケトエステルの *O*-イリド形成—[2,3]-転位反応を用いて立体選 択的に合成したテトラヒドロフラン-2-メタノール 7 を DMF 中 0.3 等量 IBamide および 5 等量の オキソンと 0.3 等量の 2,6-di-*tert*-butyl-4-hydroxytluene (BHT)存在下反応させると、83%でラクト ン 8 が得られ, tanikolide の nor 類縁体を合成できた。²⁴⁾本反応では、ラジカル補足剤 BHT が必要 で、BHT 非存在下では副反応としてベンジル位での酸化が起こった。Tanikolide 合成に向け、ピ ラン誘導体 9 との反応を検討すると、IBamide との反応は低収率であったが、ニトロメタンーDMF の混合溶媒中、50 ℃ で IBaAA と BHT存在下で反応させると、まずまずの収率で対応するδ-ラク トン 10 が得られ、tanikolide を合成することができた。²⁵⁾



Scheme 5. Synthesis of nortanikilide and tanikolide

2.磁性鉄ナノ粒子担持触媒:回収・再使用容易な酸化触媒¹⁷⁾

最近,均一系触媒および不均一系触媒のそれぞれの長所を併せもつ擬均一系触媒と呼ばれる磁 性鉄ナノ粒子担持型触媒が見出された。26)これは反応溶媒に不溶な不均一系触媒であるが、ナノ粒 子であるため触媒の表面積が大きく、均一系触媒に匹敵する反応性を有している。また、触媒が 磁性を持つため外部からの磁石による吸着が可能であり、上澄み液と容易に分離できるため、ろ 過すら不要であるという特長をもっている。そこで、ヨードベンゼン型酸化触媒の回収・再使用 をより容易にするために、磁性鉄ナノ粒子への固定化を検討した。3-アミノプロピルシリル基を リンカーとしてマグネタイト(Fe₃O₄)とフェノール酸化に有効な IPAA とを連結させて鉄ナノ粒 子担持ヨードアレーン触媒 11 を合成した。触媒 11 は IPAA とほぼ同等の触媒活性を示し、オキ ソン存在下, p-アルコキシフェノール 13a を対応する p-ベンゾキノン 14a へと高収率で変換した (Table 9)。反応終了後は磁石で触媒を固定し傾瀉するだけで容易に触媒と生成物とを分離でき た。しかしながら、回収した触媒を繰り返し使用すると、反応性が大きく低下し、4 回目の使用 時に反応時間が大幅に延長した。これは、オキソンの酸性のためにシリルオキシ部の切断が起こ っているのではないかと考えた。そこで、新たにリンカーとして酸性条件下で安定なリン酸エス テルを用い, 触媒である 4ヨードフェノールとは Huisgen 反応で連結させて鉄ナノ触媒 12 を合成 した。触媒12は期待した通り反応条件下で安定で、繰り返し使用すると、徐々に反応時間が延長 するものの触媒を8回使用することができた(Table 9)。さらに,鉄ナノ触媒12を用いて,様々 な p-アルコキシフェノール類 13 の酸化を検討した(Table 10)。その結果, 収率良く対応する p-ベンゾキノン類13が得られ、全ての場合において触媒を容易に回収することができた。



Fig. 4. Magnetic nanoparticle-supported catalysts.



おわりに

我々はこれまでフェノールおよびアルコール類の酸化反応を中心に,新しいヨードベンゼン型 酸化触媒を創製してきた。本稿では,室温でアルコール酸化を実施できるヨードベンズアミド触 媒とその高活性化,および再使用の簡便さを追求したナノ粒子を利用した磁性鉄担持型触媒につ いて紹介した。それぞれまだまだ問題点が残っているものの,得られた知見を総合して発展させ ることにより,工業的にも利用できる酸化触媒創製につながるものと期待している。

謝辞

本研究の一部は公益財団法人篷庵社からの4年間にわたる研究助成によるものであり、ここに 厚く御礼申し上げます。また、ご推薦を賜りました北泰行先生に心より感謝申し上げます。最後 に、本研究の成果は富山大学大学院医学薬学研究部分子合成化学研究室の南部寿則准教授、藤原 朋也助教および学生の献身的な努力により得られたものであり、この場をお借りして深謝いたし ます。

引用文献

- 1) V. V. Zhdankin, "Hypervalent Iodine Chemistry", John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, 2013; "Iodine Chemistry and Applications", T. Kaiho (Ed.), John Wiley & Sons, Ltd, Hoboken, 2014.
- T. Dohi, Y. Kita, Kagaku (Kyoto, Japan), 61, 68 (2006); R. D. Richardson, T. Wirth, Angew. Chem. Int. Ed., 45, 4402 (2006); M. Ochiai, K. Miyamoto, Eur. J. Org. Chem., 4229 (2008); T. Dohi, Y. Kita, Chem. Commun., 2073 (2009); M. Uyanik, K. Ishihara, Chem. Commun., 2086 (2009); F. V. Singh, T. Wirth, Chem. Asian J., 9, 950 (2014).
- 3) T. Dohi, A. Maruyama, M. Yoshimura, K. Morimoto, H. Tohma, Y. Kita Y., Angew. Chem. Int. Ed., 44, 6193 (2005).
- 4) M. Ochiai, Y. Takeuchi, T. Katayama, T. Sueda, K. Miyamoto, J. Am. Chem. Soc., 127, 12244 (2005)
- 5) Y. Yamamoto, H. Togo, Synlett, 798 (2006).
- 6) A. P. Thottumkara, M. S. Bowsher, T. K. Vinod, Org. Lett., 7, 2933 (2005).
- 7) A. Schulze, A. Giannis, Synthesis, 257 (2006).
- 8) T. Yakura, T. Konishi, *Synlett*, 765 (2007); T. Yakura, Y. Tian, Y. Yamauchi, M. Omoto, T. Konishi, *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 252 (2009).
- 9) T. Yakura, M. Omoto, Chem. Pharm. Bull., 57, 643 (2009).
- 10) T. Yakura, M. Omoto, Y. Yamauchi, Y. Tian, A. Ozono, *Tetrahedron*, 66, 5833 (2010).
- 11) T. Yakura, Y. Yamauchi, Y. Tian, M. Omoto, Chem. Pharm. Bull., 56, 1632 (2008).
- 12) T. Yakura, A. Ozono, Adv. Synth. Catal., 353, 855 (2011).
- 13) T. Yakura, A. Yamada, N. Noda, T. Fujiwara, H. Nambu, Asian J. Org. Chem., 3, 421 (2014).
- 14) T. Yakura, T. Fujiwara, A. Yamada, H. Nambu, Beilstein J. Org. Chem., 14, 971 (2018).
- 15) T. Yakura, Y. Horiuchi, Y. Nishimura, A. Yamada, H. Nambu, T. Fujiwara, *Adv. Synth. Catal.*, **358**, 869 (2016).
- 16) T. Yakura, T. Fujiwara, H. Nishi, Y. Nishimura, H. Nambu, Synlett, 29, 2316 (2018).
- 17) H. Nambu, I. Shimokawa, T. Fujiwara, T. Yakura, Asian J. Org. Chem., 5, 486 (2016).
- 18) T. Miura, K. Nakashima, N. Tada, A. Itoh, Chem. Commun., 47, 1875 (2011).
- 19) J. N. Moorthy, K. Senapati, K. N. Parida, S. Jhulki, K. Sooraj, N. N. Nair, J. Org. Chem., 76, 9593 (2011); S. Seth, S. Jhulki, J. N. Moorthy, Eur. J. Org. Chem., 2445 (2013); S. Jhulki, S. Seth, M. Mon-

dal, J. N. Moorthy, *Tetrahedron*, **70**, 2286 (2014).

- 20) M. Uyanik, M. Akakura, K. Ishihara, J. Am. Chem. Soc., **131**, 251 (2009); M. Uyanik, R. Fukatsu, K. Ishihara, Org. Lett., **11**, 3470 (2009); M. Uyanik, K. Ishihara, Aldrichimica Acta, **43**, 83 (2010); M. Uyanik, T. Mutsuga, K. Ishihara, Molecules, **17**, 8604 (2012); M. Uyanik, K. Ishihara, Org. Synth., **89**, 105 (2012).
- 21) T. Yakura, A. Ozono, K. Matsui, M. Yamashita, T. Fujiwara, Synlett, 24, 65 (2013).
- 22) D. Papaioannou, G. W. Francis, D. W. Aksnes, T. Brekke, K. Maartmann-Moe, Acta Chem. Scand., 44, 90 (1990); S. M. Ali, K. Ramesh, R. T. Borchardt, Tetrahedron Lett., 31, 1509 (1990); S. Baskaran, S. Chandrasekaran, Tetrahedron Lett., 31, 2775 (1990); J. N. Kim, E. K. Ryu, Tetrahedron Lett., 33, 3141 (1992); D. F. Taber, Y. Song, J. Org. Chem., 61, 7508 (1996); D. F. Taber, Y. Song, J. Org. Chem., 62, 6603 (1997); L. G. Dickson, E. Leroy, J.-L. Reymond, Org. Biomol. Chem., 2, 1217 (2004); J. S. Yadav, M. S. Reddy, A. R. Prasad, Tetrahedron Lett., 46, 2133 (2005); P. Singh, A. Mittal, S. Kaur, S. Kumar, Bioorg. Med. Chem., 14, 7910 (2006); J. S. Yadav, M. S. Reddy, A. R. Prasad, Tetrahedron, K. R. Rao, Tetrahedron, 63, 11011 (2007); F. Klepper, E.-M. Jahn, V. Hickmann, T. Carell, Angew. Chem. Int. Ed., 46, 2325 (2007).
- 23) K. Tomooka, M. Kikuchi, K. Igawa, M. Suzuki, P.-H. Keong, T. Nakai, Angew. Chem. Int. Ed., 39, 4502 (2000); R. P. Robinson, V. Mascitti, C. M. Boustany-Kari, C. L. Carr, P. M. Foley, E. Kimoto, M. T. Leininger, A. Lowe, M. K. Klenotic, J. I. MacDonald, R. J. Maguire, V. M. Masterson, T. S. Maurer, Z. Miao, J. D. Patel, C. Préville, M. R. Reese, L. She, C. M. Steppan, B. A. Thuma, T. Zhu, Bioorg. Med. Chem. Lett., 20, 1569 (2010); F. Urabe, S. Nagashima, K. Takahashi, J. Ishihara, S. Hatakeyama, J. Org. Chem., 78, 3847 (2013).
- 24) H. Jinnouchi, H. Nambu, T. Fujiwara, T. Yakura Tetrahedron, 74, 1059 (2018).
- 25) H. Jinnouchi, H. Nambu, K. Takahashi, T. Fujiwara, T. Yakura Tetrahedron, 75, 2436 (2019).
- 26) R. B. Nasir Baig, R. S. Varma, Chem. Commun., 49, 752 (2013).

強酸性炭素酸とその共役塩基に着目した新触媒の開発

東京薬科大学 薬学部

矢内 光

有機化学の教科書は、C-H 結合をもつ炭素酸の酸性度に多くのページを割いている。1.3-ジカルボニル化合物などの、いわゆる、活性メチレン化合物が合成化学的に有用なエノラー トの発生源として用いられるためである。しかし、典型的な活性メチレン化合物の酸性度は フェノールと同程度であって、鉱酸やカルボン酸と比べれば格段に小さい。「強い有機酸」 と聞いて、すぐに思いつくのは、恐らく解離性水素を酸素原子ないし窒素原子上にもつ酸素 酸,窒素酸であろう。ところが,有機化合物の物性は驚異に満ちている。1950年代,トリフ ルオロメチルスルホニル基 (トリフリル基; $Tf = CF_3SO_2$) で gem-二置換されたメタン Tf_2CH_2 が合成され、その酸性度が硫酸分子に匹敵することが報告された。[1] 私たちは、先駆的なこ の報告に魅了され、Tf₂CHR型炭素酸の合成法の開発と共に酸触媒としての応用に関する研究 を進めている(図1)。^[2] Tf₂CHR 型炭素酸を触媒とする反応系では, TfOH や Tf₂NH といっ た既存の酸とは異なった触媒作用が観察されることも少なくない。反応系内で生じるカチオ ン性反応中間体における対イオンの違いが、酸触媒の分子構造に起因する触媒作用の違いを もたらしているのではないかと考えた。すなわち、電子的、立体的に安定化された極安定カ ルボアニオン [Tf₂CR]-(Tf₂CHR 型炭素酸の共役塩基)は、カチオン性中間体とのイオン間相 互作用を最小化することで、これに naked な性質を付与する可能性がある。極安定カルボア ニオン [Tf₂CR] は, 分子間塩あるいは分子内塩として単離可能な化学種だが, その理解に向 けた体系的な取り組みはなされていなかった。本研究では、[Tf₂CR]-の化学的性質の解明と それに基づいた諸現象の理解を目指して一連の検討を進めた。以下に、詳細な結果を示す。



図 1. Tf₂CHR 型炭素酸の分子構造とこれまでに開発した炭素酸誘導体 1-4

1)カルボアニオン構造をもつ 2-フルオロピリジニウム型双性イオン^[3]

本研究に着手する少し前に、私たちは 2-フルオロピリジニウム塩 4 が求電子アルケン Tf₂C=CH₂の優れた系内発生試薬となることを報告した(図 2)。^[3b]二つのトリフリル基によ って安定化されたカルボアニオン部とピリジニウム部とを併せもつこの双性イオンは、吸湿 性や潮解性のない安定な無色結晶で、結晶として保存すれば、数ヶ月以上に亘って顕著な分 解は見られない。しかし、アセトニトリルなどの極性溶媒に溶かすと即座に解離して Tf₂C=CH₂/2-フルオロピリジンとの平衡混合物を与えた。種々の求核種 Nu-H 存在下であれば、 系内発生した Tf₂C=CH₂ と求核種とが速やかに反応し、目的の酸 Tf₂CHCH₂Nu を与える。^[4]



図 2.2-フルオロピリジニウム塩4

2-フルオロピリジニウム塩4の動的 NMR 解析^[3a]から、この平衡反応がサブミリ秒オーダーという極端に速いプロセスであることが明らかになると、「C-N 原子間が共有結合で結ばれた双性イオン」と「非共有結合性相互作用によって結ばれた分子会合体」のいずれなのかという疑問が湧いてきた。幸い、この疑問はすぐに解消した。動的 NMR から得た平衡パラメータ、単結晶 X 線構造解析と量子化学計算の全ての結果が、C-N 共有結合をもつ分子内塩であることを示唆していたためである。極安定カルボアニオンの性質や構造を解明しようとすると、決まって「(化学構造式に)線を描くべきか、描かざるべきか」という疑問に遭遇する。この例は、C-N 原子間に「線を描くべきか、描かざるべきか」という疑問であったが、Lewis 構造に基づく構造表記の限界を感じさせる印象的な研究であった。

2) リンカルバベタインあるいはホスファシクロアルカン^[5]

冒頭で述べた通り, [Tf₂CR]⁻ とカチオン種との間で想定されるイオン間相互作用の弱さは, Tf₂CHR型炭素酸触媒を用いた合成反応の大きな特徴と考えられるが,こうした「弱さ」に関 する実験的な解析は皆無である。そこで,化合物A(あるいはB)を考案した(図3)。構造 A はホスホニオ基とカルボアニオン部とが隔てられたリンカルバベタイン(双性イオン)で あり,構造Bはそれが閉環したホスファシクロアルカンである。両者は構造異性体であるこ とから,原理上,分光学的な区別が可能で,平衡の位置などの情報から [Tf₂CR]⁻ とカチオン 種との間に働く相互作用の強弱を評価できるのではないかと考えた。



図 3. リンカルバベタインあるいはホスファシクロアルカン

目的の化合物は,先述した 2-フルオロピリジニウム塩 4 を用いると容易に得られた(図 4)。 すなわち,種々のホスフィンとの反応は室温下,15 分以内に完結し,対応する生成物 6 を良 好な収率で与えた。また,4 に対してリンイリドを作用されば,C2 単位で隔てられた化合物 7 が得られた。



各種 NMR データから,これらの化学種がリンカルベニウムイリド A であることが示された(図 5)。例えば, 6g, 6k, 6iの 0.20 mol L⁻¹ CDCl₃ 溶液を用いた¹³C NMR 解析において,アニオン性炭素原子が約 57 ppm に観測され、リン原子とのカップリングは観測されなかった。また,トリブチルホスホニウム塩 6iの³¹P NMR における化学シフトは,臭化メチルトリブチルホスホニウムの値とほぼ同じであった。



図 5. CDCl₃中における ¹³C および ³¹P NMR データ

単結晶 X 線回折実験の結果,7 つの化合物について結晶中での分子構造を求めることがで きた(図 6)。測定数に限りがあるものの,得られた構造からカルボアニオン部がもつユニ ークな立体座特性を見いだしている。すなわち,アニオン性炭素原子 C1 が定義する平面に対 して,二つのトリフルオロメチル基が逆側を占める *trans* 配座と同側を示す *cis* 配座である。 全ての化合物が,いずれかの配座として観察された。注目すべきことに,C1 原子とP原子が C2単位で隔てられた化合物7は両原子が C2-C3 結合に対して *anti* に位置しており,これがホ スファシクロブタン 7-B であるとは考えられない。すなわち,リンカルバベタイン 7-A とし て記述すべき化学種である。また,C1 原子とP原子が C1単位で隔てられた化合物 6 であっ ても,C1-C2-P角は約 118°と広く,分子のジオメトリーはこれらがリンカルバベタイン 6-A であることを示唆していた。



図 6. リンカルバベタインの結晶中における分子構造

ただし、単結晶 X 線回折実験では結晶中における原子の位置は決定できるが、原子間相互 作用に関する詳細な情報は得られない。C1-C2-P 角という幾何学的な原子の位置関係のみを 根拠として、6を6-Aと看做すことには無理がある。そこで、trans 配座をもつ 6aと cis 配座 をもつ 6h について量子化学計算を用いた原子間相互作用解析を進めた。密度汎関数法 [M06-2x/6-311++G(d,p)] により最適化した波動関数を Bader の Quantum Theory of Atoms in Molecules (QTAIM) で解析したところ、いずれの構造においてもカチオン性リン原子 P まわ りに炭素原子との共有結合以外のボンドパスを見いだすことができなかった(図 7A および B)。無論, absence of evidence is not evidence of absence であって、C1…P 間のボンドパスの欠 如が両原子間に相互作用が「ない」ことを意味するわけではない。図 7A, B では C1 原子近傍 の酸素原子やフッ素原子と、P1 原子近傍の原子との間に計算された複数のボンドパスが描か れており、結合臨界点(BCP) における諸パラメータは、それらが静電的な相互作用である ことを示していた。C-H…O 相互作用を始めとした弱い相互作用の協同によって分子構造の 安定化が果たされている系である。なお、興味深いことに、既知のホスホニウムエノラート 8 の計算では、アニオン性酸素原子 O1 とカチオン性リン原子 P 間に明確な電荷移動相互作用 の存在が示された(図 7C)。



図 7. QTAIM 解析により得られたボンドパスと原子電荷 (in e; 上段, NPA 電荷; 下段, AIM 電荷)

3) 極限的に分極した push-pull エチレン^[6]

リンカルバベタインの研究は、 σ 結合の「作りにくさ」を調べたものである。一方、 π 結合の「作りにくさ」に調べる題材として興味をもったのが、push-pull エチレン Tf₂C=C(NHR)₂であった。Hanack らは、ジイソプロピル体 **9a** (R = *i*-Pr) が結晶中において C1-C2 軸まわりの大きなねじれをもつことを報告していたが(図 8A)、「¹⁷ ねじれの解消された平面性の高いpush-pull アルケン(図 8B)は知られていなかった。Hanackの **9a** では π 結合形成による分子構造の安定化は弱いと考えられ(共鳴構造 **9a-C** の小さな寄与)、ねじれの大小が π 結合に及ぼす影響に興味を抱いた。





そこで、平面的な push-pull エチレン構造の構築を目指して、Tf₂CH₂ とカルボジイミドとの 反応を体系的に検討した。その結果、窒素原子上に種々の置換基をもつ push-pull エチレン 9-11 が中程度から良好な収率で得られた(図 9)。これら化合物の NMR 解析は、N,N'-ジアルキ ル体 9 と N,N'-ジアリール体 10 が溶液中において全く異なった配座特性を示すことを示して いた。例えば、重アセトニトリル中、9a の二つのイソプロピル基と N-H のシグナルは共には 磁気的に非等価であったが、10a では二つの o-トルイル基と N-H のシグナルそれぞれが等価 であった。このことは、9a が二つの C-N 結合に対する s-trans,s-cis 配座として、10a は s-cis,s-cis 配座として存在することを意味する。また、アニオン性を帯びていることが想定される C2 原子の化学シフトは、カルボアニオン含有分子内塩 3,4 (図 1) および 6,7 (図 4) のアニオ ン性炭素原子の値とほとんど同じであった。なお、合成した全ての化合物において同様の結 果が得られた。



より詳細な構造情報を得るべく, 9a と 10a の単結晶 X 線回折実験を行った(図 10)。また, 原子間距離の観点から明瞭なπ結合をもつと考えられる PhCH=CHCH=CTf₂ 12^[8]の結晶構造

も併せて得た。解析の結果、9aが C1-C2 結合まわりの大きなねじれ(ねじれ角 τ = 67.6°)を もつのに対して、10a ではそれが大きく解消されている ($\tau = 8.1^{\circ}$) ことが確認された。注目 すべきは、ねじれの大小に関わらず、両 push-pull エチレンの C1-C2 原子間距離に顕著な違 いが認められなかった点である。そこで、両構造における「C=C」結合状態に理解をもたら すべく, X 線回折データで補正した波動関数 [X-ray wavefunction refinement (XWR) 法] を 用いた結合解析を行った。Lewis 構造との対応が明確な Natural Resonance Theory (NRT)解析 によって共鳴構造の寄与率を求めたところ、ねじれた 9a では電荷分離した共鳴構造 9a-Cの 寄与が一方的(C/D=3/97)であるのに対して、10aでは「電荷分離した共鳴構造 10a-Fの寄 与が大きいが、依然として π 結合を伴う共鳴構造 **10a-E** が主たる共鳴構造である」 $(\mathbf{E}/\mathbf{F} =$ 79/21) との結論が得られた。ジエン12では、π結合を伴う共鳴構造の寄与が支配的(93/7) であることを考えると、10a における電荷分離共鳴構造の異常な寄与率の大きさが実感でき る。なお、Hartree-Fock 計算(HF/def2-TZVPP)で最適化した波動関数を用いた場合, 10a に おける各共鳴構造の寄与率は E/F = 11/89 と逆転した。電子相関が考慮されない Hartree-Foch 計算では,共鳴構造 E の寄与が過大評価されていることを示すもので,こうした ab initio 計 算の結果を共鳴構造の解析に利用していくことには危険性がある。



図 10. (A) XWR-単結晶 X 線回折実験で求めた 9a, 10a, 12 の結晶中における分子構造 (B) Newman 投影式

XWR 波動関数を用いた electron localizability indicator (ELI) 解析を行うことで、結合に関わる電子密度の明瞭な差異を可視化することができた(図 11)。⁵⁾ すなわち、ELI 解析では電子密度の高い領域(電子ドメイン)をプロットすることができるが、ねじれた 9a の C1–C2 原子間には、形状・大きさの両面で通常の σ 結合と看做すことができる結合電子ドメインと

共に C2 の上下に非共有電子ドメインが見られた(図 11A)。他方,ジエン 12 では C1-C2 原 子間の結合電子ドメインが上下に大きく伸展する一方で,C2 上の非共有電子ドメインは計算 されなかった(図 11C)。平面的な分子構造をもつ push-pull エチレン 10a は,真の意味で両 者の中間的性質を持っていた。すなわち,この場合では 9a に比べて C1-C2 結合電子ドメイ ンの僅かな伸展が見られると同時に,C2 原子上の非共有電子ドメインが明確に保たれていた (図 11B)。この結果は,電子求引基で置換された C-C 二重結合という普遍的な構造に,少 なくとも三つの異なった電子状態があることを意味している。



図 11. (A) ねじれた push-pull エチレン 9a と (B) 平面的な push-pull エチレン 10a, (C) PhCH=CHCH=CTf₂ 12 の C1–C2 間に見いだされた ELI ドメイン (solid for 9a, isovalue = 1.60, solid 10a and 12 for isovalue = 1.52; transparent for all, isovalue = 1.45) と各原子の電荷 (in e; 上段, AIM 電荷; 下段, NPA 電荷)

トリフリル基で置換された push-pull エチレンを系統的に合成していく中で, N-アルキル-N'-アリール体 11 が溶液中においてユニークな動的配座特性を示すことに気がついた(図 7)。 すなわち,こうした化合物は種々の溶媒中で,平面的な s-cis, s-cis 配座とねじれた s-cis, s-trans 配座の平衡混合部物を与えた(図 12)。ここで面白いのは,アルキル基で置換された側の N1 原子と C2 原子間の結合に関する内部回転のみが起こっており,それと連動した形で C1-C2 軸まわりのねじれが生じている点である。この配座特性は,対応する尿素やチオ尿素とは全 く異なったもので,新たな有機分子触媒の設計指針として利用可能であった。すなわち,L-プロリンのカルボキシ基を push-pull エチレン構造で置き換えた有機触媒 13 を開発した。



図 12. 非対称に置換された push-pull エチレン 11b の配座特性と設計した触媒 13

L-プロリン14は、エナンチオ選択的アルドール反応の優れた有機分子触媒として知られている。^[9]既に、選択性や触媒作用の改善を目指したアナログ触媒の開発も進められているが、 実は、環状ケトンと芳香族アルデヒド間での反応における単純ジアスレテオ選択性は未解決 の問題として残されてきた。^[10] 例えば, L-プロリン 14 存在下でシクロヘキサノンと 4-ニト ロベンズアルデヒドを反応させても, *syn/anti* 選択性, エナンチオ選択性共に満足できるもの ではない(図 13)。一方で, push-pull エチレン構造を導入した L-プロリンアナログ 13a を用 いるとエナンチオ選択性のみならず, ジアスレテオ選択性も大きく改善した。^[11] 対応するチ オ尿素 15 やフェニル体 13b を用いると選択性の低下が見られたが, 環状ビススルホン構造を もつ 13c は良好なジアスレテオ選択性を維持したまま, エナンチオ選択性の向上をもたらし た。触媒 13c は、種々の置換ベンズアルデヒドを用いたエナンチオ・ジアスレテオ選択的ア ルドール反応において優れた立体選択性をもたらした。



図 13. シクロヘキサノンと 4-ニトロベンズアルデヒドの反応における L-プロリン型有機分子触媒の効果

カルボアニオンと聞けば、多くの有機化学者は、反応性に富み、不安定で単離することが 困難な化学種を想定するのではないだろうか。ただし、中には、「変な」カルボアニオンも いる。ちょっと変わった化学種の研究を通じて、一般有機化学に新しい見方や考え方を提案 できるのではないかと期待している。

【謝辞】 本研究の大部分は,東京薬科大学薬学部で行われたものであり,学生の皆さんが 実に多くの実験を担当してくれました。また,同 松本隆司教授,三浦 剛教授とは日常的に 意見交換を行い,研究を深める上での多くの助言を頂きました。リンカルバベタインの化学 では,Benito Alcaide 教授(マドリード・コンプルテンセ大学)と Pedro Almendros 教授(ス ペイン科学研究高等会議)の研究グループから一部の化合物を提供していただきました。 Push-pull エチレンの化学では,Simon Grabowsky 教授(ブレーメン大学)に XWR 単結晶 X 線回折実験を行っていただきました。快く,献身的に研究を進めてくださった共同研究者の 皆さんに深く感謝申し上げます。また,四年間にわたる継続的な経済的支援をしてください ました公益財団法人 篷庵社に心から御礼申し上げます。

【参考文献】 (〇は、本研究により得られた研究成果)

- (a) T. J. Brice, P. W. Trott, U.S. Pat. 2 732 398, 1956; (b) T. Gramstad, R. M. Haszeldine, J. Chem. Soc. 1957, 4069.
- (a) H. Yanai, Chem. Pharm. Bull. 2015, 63, 649; (b) H. Yanai, T. Taguchi, J. Synth. Org., Jpn. 2014, 72, 158.
- (a) O H. Yanai, R. Takahashi, Y. Takahashi, A. Kotani, H. Hakamata, T. Matsumoto, *Chem. Eur. J.* 2017, 23, 8203; (b) H. Yanai, Y. Takahashi, H. Fukaya, Y. Dobashi, T. Matsumoto, *Chem. Commun.* 2013, 49, 10091.
- 4. O P. Almendros, H. Yanai, S. Hoshikawa, C. Aragoncillo, C. Lázaro-Milla, M. Toledano-Pinedo, T. Matsumoto, B. Alcaide, *Org. Chem. Front.* **2018**, *5*, 3163.
- 5. O H. Yanai, P. Almendros, S. Takahashi, C. Lázaro-Milla, B. Alcaide, T. Matsumoto *Chem. Asian J.*, **2018**, *13*, 1956.
- O. H. Yanai, T. Suzuki, F. Kleemiss, H. Fukaya, Y. Dobashi, L. A. Malaspina, S. Grabowsky, T. Matsumoto, *Angew. Chem. Int. Ed.* 2019, *58*, Early View (doi: 10.1002/anie.201904176).
- 7. M. Hanack, J. Hackenberg, O. Menke, L. R. Subramanian, R. Schlichenmaier, *Synthesis* **1994**, 249.
- 8. H. Yanai, S. Egawa, T. Taguchi, *Tetrahedron Lett.* 2013, 54, 2160.
- 9. B. List, R. A. Lerner, C. F. Barbas, III, J. Am. Chem. Soc. 2000, 122, 2395.
- (a) S. Bahmanyar, K. N. Houk, H. J. Martin, B. List, J. Am. Chem. Soc. 2003, 125, 2475. (b) M. Penhoat, D. Barbry, C. Rolando, *Tetrahedron Lett.* 2011, 52, 159; (c) L. Zu, H. Xie, H. Li, J. Wang, W. Wang, Org. Lett. 2008, 10, 1211.
- 11. O H. Akutsu, K. Nakashima, H. Yanai, A. Kotani, S. Hirashima, T. Yamamoto, R. Takahashi, A. Yoshida, Y. Koseki, H. Hakamata, T. Matsumoto, T. Miura, *Synlett* **2017**, *28*, 1363.

低分子・中分子創薬を加速する革新的骨格構築法の開発と応用

京都大学大学院薬学研究科

大野浩章

1. はじめに

近年の創薬研究において、大規模スクリーニングにより有望なヒット化合物を見出 すことが益々困難になっている。その理由の一つは、化合物ライブラリーが占有する ケミカルスペースが十分に大きくないことである。通常ライブラリーの構築には、容 易に入手できる合成ユニットを用いて、アミド形成やクロスカップリング反応等によ り骨格構築を行うことが多いため、得られる化合物は平面性の高い単純化合物の網羅 的集合体となりやすい。このため最近では、sp³炭素を多く含む三次元的な基本骨格を 有する低分子化合物や、複雑な構造を有する中分子化合物に注目が集まっている。

複雑な構造を有する低分子・中分子化合物として、アルカロイド誘導体は極めて有 望である。アルカロイドやその誘導体は、古くから創薬研究の重要な役割を担ってき たが、複雑な基本骨格を有する生物活性アルカロイドを創薬研究に利用することには 大きな制限がある。これは、複雑なアルカロイド骨格の構築が通常多段階を要するた め、多くの場合において関連天然物を出発原料として用いる必要があることに起因す る。半合成は基本骨格の構造が出発物質によって規定されるため、基本骨格そのもの の変換が困難であり、入手容易性の問題もしばしば生じる。半合成に使用できる安価 な天然物が存在しない場合には、構造展開を実施することがそもそも難しい。以上の ことから、生物活性アルカロイドに存在する三次元的な基本骨格を簡便に構築する反 応の開発と、有望な分子を中分子化する新しい戦略が、創薬の現場において強く求め られている。

連続反応によるアルカロイド骨格の一挙構築法は、天然物創薬研究において有用な 方法論となりうる。さらに、得られた構造単位同士を中分子化する戦略を開発するこ とにより、生物活性アルカロイドおよびその誘導体、三次元的ドラッグライク化合物、 および新規ハイブリッド分子からなる多様性に富んだ低・中分子化合物ライブラリー を構築することが可能となり、創薬リードの創出につながると期待できる。

我々は、低分子・中分子創薬を加速する革新的な有機化学的アプローチの開発を目 的として、連続反応を用いたアルカロイド骨格の一挙構築法の開発を実施している。 環境調和型の合成化学が求められる現代においては、廃棄物の少ない反応系を構築す ることが強く求められるため、連続反応に組み入れる素反応は原子効率が高い方が望 ましい。金触媒反応は高い原子効率で反応活性種を生じるため、この点において極め て有望である。本講演では、連続反応を用いたアルカロイド骨格の構築に関する最近 の研究成果について述べる。

2-1. 縮環カルバゾール骨格の一挙構築法の開発

縮環カルバゾールは、様々な生物活性化合物や機能性分子に存在する基本骨格であ る。特にヘテロ芳香環が縮環した[c]カルバゾールには、多くの生物活性インドールア ルカロイドが知られている。すでに報告されている縮環カルバゾール合成法は、アニ リンとハロベンゼンをカップリングさせてピロール環を構築するか(Scheme 1A)、ビ ニル基やアリール基を有するインドールとアルキンやアルケン等との反応によりベ ンゼン環を構築するもの(Scheme 1B)がほとんどである。我々は、アジドジインと 芳香族化合物の分子間反応により、ピロール環とベンゼン環を同時に構築する連続環 化反応をデザインした(Scheme 1C)。本反応は、アジド基からの求核攻撃と窒素の脱 離により金カルベン型中間体 B を形成し、引き続く分子間アリール化と分子内ヒドロ アリール化により縮環カルバゾールが得られることを期待したものである。分子内に アルキンを有するアジドベンゼンから 3 位置換インドールを合成する反応はすでに 報告されていたが²、ジインを用いた連続環化反応は知られていなかった。



Scheme 1

基質となるアジドジイン1は、アルキニルアニリンとブロモアルキンのカップリン グと、それに続くアジド基の構築により合成した(Scheme 2)。



Scheme 2

合成した1を用いて、ベンゼン誘導体との金触媒連続環化反応を検討した(Scheme 3)。アニソールをカップリングパートナーとして反応条件の最適化を行った結果、5 mol%の JohnPhosAu(MeCN)SbF6存在下、アニソールを10当量用いてトリクロロエタン(TCE)中で反応を行うと、75%の収率で目的の3aが得られた(Condition A)。アニソールを溶媒量用いた場合には収率が86%まで向上した(Condition B)。これらの条件を用いてベンゼン誘導体との反応を検討したところ、予想される通り、反応点の電子密度が高いほど反応性と収率が高い傾向にあった。ジイン末端の置換基についても検討を加え、フェニル基上への置換基の導入が許容であることを確認した。



Scheme 3

次にピロールを用いた反応を検討した(Scheme 4)。無置換ピロールを用いるとピ ロロ[3,2-c]カルバゾール 4'が優先的に生成した(ca. 62%, 4:4' = 25:75)。我々は本反 応をディクチオデンドリンの全合成(後述)に適用することを考えていたため、ピロ ロ[2,3-c]カルバゾール 4 を優先的に得る必要があった。そこで置換基の検討を行った ところ、N-Boc ピロールを用いた際に異性体 4 を優先的に得ることに成功した(60%, 4:4' = 92:8)。窒素置換基によって反応の選択性が大きく変化する現象は興味深いが、 その理由は明らかになっていない。



Scheme 4

引き続き、反応の一般性について検討を加えた。Figure1に示す通り、ジイン末端 のフェニル基上に存在するメチル基、クロロ基、ニトロ基、メトキシ基は、反応性お よび選択性を大きく変化させなかった。カップリングパートナーとしてインドールも 利用可能で、対応するインドロカルバゾールを良好な位置選択性で得ることができた。 この際、インドールの5位が無置換の場合はやや収率が低下したが(4h,35%)、電子 求引性基を有する場合に、反応はより良好に進行した。





2-2. ディクチオデンドリン類の全合成³

引き続き、開発した縮環カルバゾール合成法をディクチオデンドリン類の全合成に 適用した。ディクチオデンドリン類は 2003 年に伏谷らによってはじめて単離された インドールアルカロイドで、テロメラーゼ阻害活性を有することが知られている (Figure 2)⁴。これらは新規抗癌剤のリード化合物として近年注目されているが、報 告されている合成戦略では多様性指向型合成が困難であるため、創薬展開は実施され

ていない⁵。我々は、新たに開発したピロロカルバゾール合成法がディクチオデンド リン類の多様性指向型合成に適用できると考え、全合成研究に着手した。





ディクチオデンドリン類は中心骨格のピロロ[2,3-c]カルバゾール上にフェノール性 水酸基を有する。そこで、アルコキシ基を導入したジイン7を用いて金触媒環化反応 を行った(Scheme 5)。ジイン7はアルキニルアニリン誘導体5とブロモアルキン6 のカップリングにより合成した。先に述べた金触媒連続環化反応を7に適用すること で、ディクチオデンドリン型のピロロカルバゾール誘導体8をまずまずの選択性で得 た(8:9=84:16,79%)。



次にディクチオデンドリンFの全合成を検討した(Scheme 6)。ピロロカルバゾール8のBoc 基を除去して得られた 10 に対して、NBS による3 位のブロモ化、ブロミド11を用いた N-アルキル化、アリールボロン酸12 との鈴木・宮浦カップリングによるアニシル基の導入を行い、1 位と3 位に望みの置換基を有する11 に変換した。引き続き、2 当量のNBSを用いた2 位および5 位のジブロモ化とパラジウム触媒を用いた2 位選択的脱ブロモ化、および Ullmann カップリング条件下におけるメトキシ基の導入を行い、脱保護と空気酸化によりディクチオデンドリンF の全合成を達成した。本経路は徳山らが報告したディクチオデンドリンCの既知前駆体^{5e}を経るため、その形式全合成も同時に達成したことになる。





ディクチオデンドリンBの全合成は以下のように行った(Scheme 7)。先に示した 1,3-二置換体13に対して1当量のNBSを作用させることで、ブロモ体14を得た。引 き続き、12に対するハロゲンーリチウム交換反応と、*p*-アニスアルデヒドへの付加に より2位への置換基の導入を行った。引き続き、得られた15に対して5位選択的な ブロモ化を行って16に変換し、Ullmann カップリングによるメトキシ基の導入、酸 化、およびフェノール性水酸基の修飾により、ディクチオデンドリンBの全合成を達 成した。同時に、ディクチオデンドリンEの形式全合成も達成した。



Scheme 7

以上のように我々は、新たに開発したピロロカルバゾール骨格の簡便合成法を利用 することで、ディクチオデンドリン類への変換法を確立することができた。現在、誘 導体の合成と、合成中間体および誘導体の活性評価を実施している。

3. アクアミリンアルカロイドの合成研究

アクアミリンアルカロイド (Figure 3) は、特徴的なかご状構造と幅広い生物活性 を有することから、多くの合成化学者の関心を集めている。ストリクタミンはアクア ミリンアルカロイドを代表する天然物で、約 50 年間にわたって全合成が報告されて いなかった。しかしながら、2016 年に Garg らがストリクタミンの初の不斉全合成を 発表したのを皮切りに^{6a}、我々の形式全合成^{6c} を含めて 12 報の全合成が報告された ⁶。このことは、ストリクタミンが多くの合成化学者の注目を集め、その合成研究が世 界中で精力的に進められてきたことを示している。



Figure 3

我々は、金触媒を用いた環化反応がアクアミリンアルカロイド骨格の構築に有用で あると考え、骨格構築反応の開発と全合成研究を行っている。我々のストリクタミン の合成経路を Scheme 8 に示す。トリプタミンから容易に誘導できるラセミ体のプロ パルギルテトラヒドロ-β-カルボリン誘導体 18 に対して金触媒を作用させると、スト リクタミン型の基本骨格を有する四環性インドレニン 19 を効率的に構築できること を見出した。引き続き、本生成物を既知の前駆体 20⁶⁶ に誘導し、ストリクタミンのラ セミ形式全合成を達成した(図7)^{6c}。本合成法は、C7 位-C16 位の炭素-炭素結合の 形成による D 環構築を合成終盤に行う点で、当時報告されていた既知の合成戦略と は全く異なる。



引き続き、ストリクタミンの不斉全合成を検討した(Scheme 9)。キラル補助基を 導入したトリプタミン誘導体 21 に対して Pictet-Spengler 反応を行うと、まずまずの立 体選択性でテトラヒドロ-β-カルボリン誘導体 22 が生成した。ジアステレオマー分離 により (1S)-22 を得た後、アルキン部位の構築とホルムアルデヒドを用いた増炭反応 を経て、光学活性な環化前駆体 25 を得た。引き続き、鍵となる金触媒環化反応を用 いて D 環部を構築し、光学活性な既知の前駆体 27 に変換して (+)-ストリクタミンの 不斉形式全合成を達成した。



Scheme 9

次に我々は、開発した環形成反応を連続環化に展開することで、アスピドフィリン A型骨格の構築が可能になると考えた。アスピドフィリンAは、2007年にKamらに よってホワイトコプシアから単離されたアクアミリンアルカロイドである。構造的に は、フロインドリン骨格やビシクロ[3.3.1]骨格、5 つの立体中心を有するシクロへキ サン環を有しており、複雑な基本骨格の構築に大きな関心が寄せられている。そのラ セミ全合成は2011年にGargらによってはじめて達成され、その後いくつかの全合成 が報告された⁷。一方、不斉全合成はGarg^{6a}、Yang^{8a}、およびZhai^{8b}により報告されて いるのみである。

我々の合成戦略を Scheme 10 に示す。分子内にエタノール部位とアルキン部位を有 する環化前駆体 29 に対して金触媒を作用させることで、6-endo-dig 型の環化反応が立 体選択的に進行すると期待した。生じたイミニウムカチオンに対し水酸基が求核攻撃 を行うことよってテトラヒドロフラン環が形成され、アスピドフィリン A の A-D 環 部を立体選択的に構築できるものと考えた。



環化前駆体 29 は、保護グリシドール 28 に対するアルキニル化、アルキン構築、インドール形成等を経て、数段階で合成した。得られたトシルアミド体 29a に対して金触媒を作用させたところ、目的の連続環化反応が進行したものの、望みの立体異性体 30a はマイナー生成物であった(Scheme 11)。現在、トシルアミド部位を別の置換基 に変換した 29b の環化反応を検討しており、良好な結果が得られている。



Scheme 11

4. おわりに

以上のように我々は、生物活性アルカロイドを効率的に合成するための新しい方法 論の開発と合成展開を実施し、アルカロイド型化合物を中分子化するための基盤構築 を行った。さらに最近は、新たに見出したアセナフテン形成反応⁹を基盤として、ア ルカロイド骨格の構築反応についても検討を加えている。これらの研究は、新しいケ ミカルスペースを占有する創薬リードを創出する上で高い有用性があると考えてい る。今後は、アルカロイド同士、あるいはアルカロイド型化合物とペプチド・脂質・ 核酸等のハイブリッド分子の合成に展開し、創薬リードの創出を目指したい。

謝 辞

本研究は、京都大学大学院薬学研究科 ケモゲノミクス・薬品有機製造学分野にお いて行われたものであり、日夜実験に励んでくれた大学院生および研究員諸氏の努力 の賜物である。最後に、本研究にご支援を賜りました公益財団法人 篷庵社に深く感 謝いたします。

文 献

- Kawada, Y.; Ohmura, S.; Kobayashi, M.; Nojo, W.; Kondo, M.; Matsuda, Y.; Matsuoka, J.; Inuki, S.; Oishi, S.; Wang, C.; Saito, T.; Uchiyama, M.; Suzuki, T.; Ohno, H. *Chem. Sci.* 2018, 9, 8416.
- (2) (a) Wetzel, A.; Gagosz, F. Angew. Chem., Int. Ed. 2011, 50, 7492. (b) Lu, B.; Luo, Y.; Liu, L.; Ye, L.; Wang, Y.; Zhang, L. Angew. Chem., Int. Ed. 2011, 50, 8358.
- (3) Matsuoka, J.; Matsuda, Y.; Kawada, Y.; Oishi, S.; Ohno, H. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2017**, *56*, 7444–7448.
- (4) Warabi, K.; Matsunaga, S.; van Soest, R. W.; Fusetani, N. J. Org. Chem. 2003, 68, 2765.
- (5) (a) Fürstner, A.; Domostoj, M. M.; Scheiper, B. J. Am. Chem. Soc. 2005, 127, 11620. (b) Fürstner, A.; Domostoj, M. M.; Scheiper, B. J. Am. Chem. Soc. 2006, 128, 8087. (c) Hirao, S.; Sugiyama, Y.; Iwao, M.; Ishibashi, F. Biosci. Biotechnol. Biochem. 2009, 73, 1764. (d) Hirao, S.; Yoshinaga, Y.; Iwao, M.; Ishibashi, F. Tetrahedron Lett. 2010, 51, 533. (e) Okano, K.; Fujiwara, H.; Noji, T.; Fukuyama, T.; Tokuyama, H. Angew. Chem., Int. Ed. 2010, 49, 5925. (f) Tokuyama, H.; Okano, K.; Fujiwara, H.; Noji, T.; Fukuyama, T. Chem. Asian J. 2011, 6, 560. (g) Liang, J.; Hu, W.; Tao, P.; Jia, Y. J. Org. Chem. 2013, 78, 5810. (h) Tao, P.; Liang, J.; Jia, Y. Eur. J. Org. Chem. 2014, 5735. (i) Pitts, A. K.; O'Hara, F.; Snell, R. H.; Gaunt, M. J. Angew. Chem., Int. Ed. 2015, 54, 5451. (j) Yamaguchi, A. D.; Chepiga, K. M.; Yamaguchi, J.; Itami, K.; Davies, H. M. J. Am. Chem. Soc. 2015, 137, 644. (k) Zhang, W.; Ready, J. M. J. Am. Chem. Soc. 2016, 138, 10684. (l) Banne, S.; Reddy, D. P.; Li, W.; Wang, C.; Guo, J.; He, Y. Org. Lett. 2017, 19, 4996. For a review, see: (m) Zhang, W.; Ready, J. M. Nat. Prod. Rep. 2017, 34, 1010.

- (6) (a) Moreno, J.; Picazo, E.; Morrill, L. A.; Smith, J. M.; Garg, N. K. J. Am. Chem. Soc. 2016, 138, 1162-1165. (b) Ren, W.; Wang, Q.; Zhu, J. Angew. Chem., Int. Ed. 2016, 55, 3500. (c) Nishiyama, D.; Ohara, A.; Chiba, H.; Kumagai, H.; Oishi, S.; Fujii, N.; Ohno, H. Org. Lett. 2016, 18, 1670. (d) Eckermann, R.; Breunig, M.; Gaich, T. Chem. Commun. 2016, 52, 11363. (e) Smith, M. W.; Zhou, Z.; Gao, A. X.; Shimbayashi, T.; Snyder, S. A. Org. Lett. 2017, 19, 1004. (f) Eckermann, R.; Breunig, M.; Gaich, T. Chem. Eur. J. 2017, 23, 3938. (g) Xiao, T.; Chen, Z.-T.; Deng, L.-F.; Zhang, D.; Liu, X.-Y.; Song, H.; Qin, Y. Chem. Commun. 2017, 53, 12665. (h) Xie, X.; Wei, B.; Li, G.; Zu, L. Org. Lett. 2017, 19, 5430. (i) Sato, K.; Takanashi, N.; Kogure, N.; Kitajima, M.; Takayama, H. Heterocycles 2018, 97, 365. (j) Chen, Z.-T.; Xiao, T.; Tang, P.; Zhang, D.; Qin, Y. Tetrahedron 2018, 74, 1129. (k) Picazo, E.; Morrill, L. A.; Susick, R. B.; Moreno, J.; Smith, J. M.; Garg, N. K. J. Am. Chem. Soc. 2018, 140, 6483. (l) Li, W.; Chen, Z.; Yu, D.; Peng, X.; Wen, G.; Wang, S.; Xue, F.; Liu, X.-Y.; Qin, Y. Angew. Chem. Int. Ed. 2019, 58, 605.
- (7) (a) Zu, L.; Boal, B. W.; Garg, N. K. J. Am. Chem. Soc. 2011, 133, 8877. (b) Li, Q.; Li, G.; Ma, S.; Feng, P.; Shi, Y. Org. Lett. 2013, 15, 2601. (c) Teng, M.; Zi, W.; Ma, D. Angew. Chem., Int. Ed. 2014, 53, 1814. (d) Ren, W.; Wang, Q.; Zhu, J. Angew. Chem., Int. Ed. 2014, 53, 1818.
- (8) (a) Jiang, S.; Zeng, X.; Liang, X.; Lei, T.; Wei, K.; Yang, Y. Angew. Chem., Int. Ed. 2016, 55, 4044. (b) Wang, T.; Duan, X.; Zhao, H.; Zhai, S.; Tao, C.; Wang, H.; Li, Y.; Cheng, B.; Zhai, H. Org. Lett. 2017, 19, 1650.
- (9) Ikeuchi, T.; Inuki, S.; Oishi, S.; Ohno, H. Angew. Chem., Int. Ed. 2019, 58, 7792.

公益財団法人 篷庵社 Hoansha Foundation 大阪市中央区道修町3丁目1番8号 電話:06-6231-9180 http://www.shionogi.co.jp/ho/