

(第 40 回)
公益財団法人 篷庵社
研究助成発表会
講演要旨集

令和 3 年 7 月 21 日 (水)

於 ヒルトン大阪

プログラム

日時：令和3年7月21日(水) 10時30分から16時50分まで

場所：ヒルトン大阪 3階 京都の間

*所属は講演当時のもの

10:30-10:35 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

10:35- 1. 不活性結合の触媒的変換法の開発 (篷庵社名誉理事)
蔦巢 守 先生 村橋 俊一 先生
(大阪大学大学院工学研究科)

11:15- 2. サラシノールをシードとする高活性スルホニウム塩型 (篷庵社評議員)
食後過血糖改善薬の合成と活性評価 小林 資正 先生
田邊 元三 先生
(近畿大学薬学部)

11:50- 昼 食 休 憩

12:35- 新規助成者ご紹介

12:55- 3. 軸不斉を活かした医薬品の分子設計-高活性化合物の創製 (篷庵社理事)
高橋 秀依 先生 大和田 智彦 先生
(東京理科大学薬学部 薬化学教室)

13:35- 4. 核外輸送因子 CRM1 の新たな機能 (篷庵社評議員)
岡 正啓 先生 米田 悦啓 先生
(国立研究開発法人医薬基盤・健康・栄養研究所)

14:15- 5. シクロファンのもみずけを利用した新規触媒の開発 (篷庵社理事)
北垣 伸治 先生 北 泰行 先生
(名城大学薬学部)

14:50- 休 憩 ・ 談 話

《特別研究助成》
15:30- 6. アミドの分子変換を基盤とした医薬品シーズの創製 (塩野義製薬(株)
小林 祐輔 先生 創薬化学研究所)
(京都薬科大学 薬化学分野) 河井 真 氏

《特別研究助成》
16:10- 7. 環骨格子モデリング戦略に基づく多環式ヘテロ環の創製 (塩野義製薬(株)
上田 昌史 先生 創薬化学研究所)
(神戸薬科大学) 山脇 健二 氏

目 次

1.	鷺巢 守	
	「不活性結合の触媒的変換法の開発」	1
2.	田邊 元三	
	「サラシノールをシードとする高活性スルホニウム塩型 食後過血糖改善薬の合成と活性評価」	11
3.	高橋 秀依	
	「軸不斉を活かした医薬品の分子設計-高活性化合物の創製」	21
4.	岡 正啓	
	「核外輸送因子 CRM1 の新たな機能」	31
5.	北垣 伸治	
	「シクロファンのも面不斉を利用した新規触媒の開発」	41
6.	小林 祐輔	
	「アミドの分子変換を基盤とした医薬品シーズの創製」	51
7.	上田 昌史	
	「環骨格子モデリング戦略に基づく多環式ヘテロ環の創製」	61

不活性結合の触媒的変換法の開発

大阪大学大学院工学研究科

鳶巢 守

1. はじめに

新たな結合形成には、同時に結合解裂がともなう。置換反応であれば σ 結合、付加反応であれば π 結合の切断が、新たな結合を生成するために必要となる。このことから考えると、従来切断が困難な化学結合を切断することができれば、新しい形式の結合形成反応を実現できることになる。遷移金属錯体の登場は、それまで容易には切断できなかった化学結合（例えばAr-X結合など）の切断をともなう化学変換を可能にした。さらに不活性なC-H結合を切断し、直接結合形成に利用するという触媒反応も、今では合成化学における大きな潮流となった。しかし、合成化学者が利用可能な化学結合は依然として限定的である。このような制限を取り払うべく、われわれは、「切れにくい化学結合を切る」ことにこだわった触媒反応の開発を進めている。これまでに、下に示したような、C-H結合以外の多くの不活性結合が触媒的に変換可能であることを明らかにしてきた（図1）。

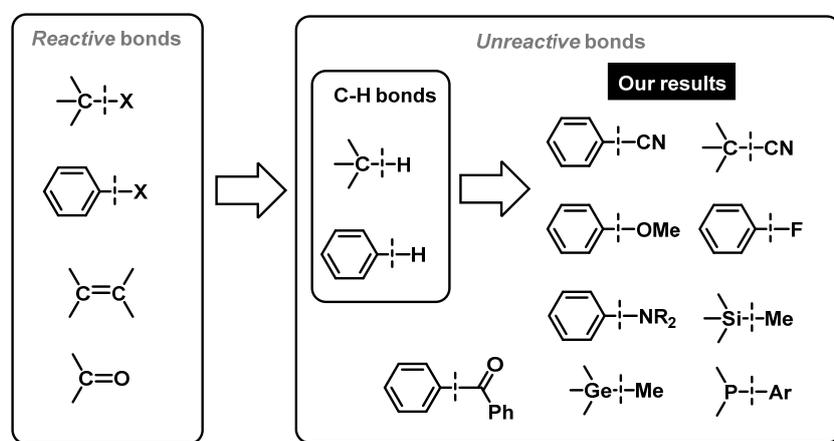
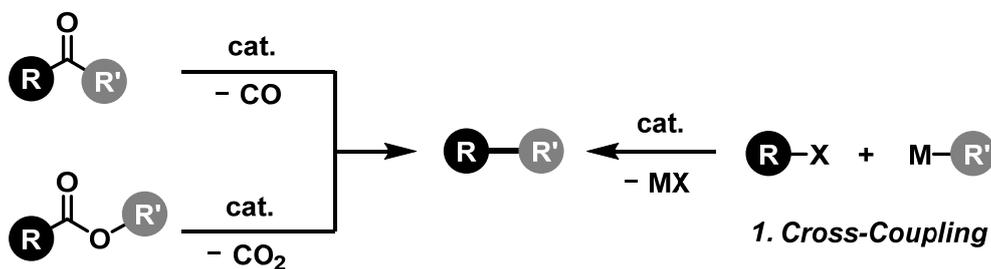


図1 有機合成における結合切断

このような不活性結合の切断過程を有機合成においてさらに利用するために、最近われわれは、脱カルボニル化、脱炭酸反応などのフラグメントカップリング反応に着目し研究を進めている。言うまでもなく、炭素-炭素結合形成反応は有機合成化学の要である。クロスカップリングが、そのための信頼できる手法として確立されて久しい（図2-1）。では、次世代の結合形成反応として、こういった形式の反応を開発する必要があるだろうか？一つ

のゴールとして、クロスカップリングで必要とされるハロゲン化物や有機金属試薬の代わりに、炭素-水素結合を用いる、いわゆる、直截カップリングがある。直截カップリング反応は近年目覚ましい進展を遂げたものの、位置選択性など本質的に解決できない問題もある。われわれのグループでは、これらと全く異なるアプローチとして、フラグメントカップリングによる手法開発を進めている。フラグメントカップリングとは、脱カルボニル化や脱炭酸のように入手容易な基質から一酸化炭素あるいは二酸化炭素のような小分子を取り除くことにより分子内で結合形成する反応のことである (図 2-2, 3)。これらの反応では、まず原料であるカルボニル化合物を信頼性の高い縮合反応などの分子間反応により調製した後、目的の結合は分子内過程で形成させる。そのため最後の結合形成段階は外部反応剤を必要としないので、**late-stage** での分子変換にも応用可能な優れた手法となりうる。脱カルボニル化、脱炭酸はありふれた反応形式に思えるが、実際には報告例がある基質はアルデヒドやアリルエステルなどの反応性の高い基質に限定的であり、一般性の高い手法はない。より広範な基質を用いたフラグメントカップリング反応の開発が実現すれば、炭素-炭素結合のみならず炭素-窒素など他の結合形成反応も可能となる。本講演では、われわれが近年開発してきたフラグメントカップリング反応について述べる。

2. Decarbonylation



3. Decarboxylation

図 2 有機合成における結合形成：クロスカップリングとフラグメントカップリング

2. 脱カルボニル化反応

ロジウム錯体によるアルデヒドの脱カルボニル化反応は Tsuji-Wilkinson 反応として知られ、ホルミル基を取り除く手法として広く有機合成に利用されてきた。一方、ケトンの脱カルボニル化反応は、アルデヒドに比べて開発が遅れている。というのも、ケトンの脱カルボニル化を進行させるためには、速度論的にも熱力学的にも安定な 2 つの炭素-炭素結合を切断する必要があるからである。1994 年、伊藤、村上らは化学量論量の Wilkinson 錯体 $[RhCl(PPh_3)_3]$ を用いることで、単純脂肪族ケトンの脱カルボニル化が進行する先駆的な例を報告した。¹⁾ 2004 年には Brookhart らにより、別のロジウム錯体を化学量論量用いる芳香族

ケトンの脱カルボニル化反応が報告された。²⁾ 触媒反応の例も報告されているが、ひずみのあるシクロブタノンやジケトン、アルキニルケトン、配向基を持つケトンなど、特殊な基質に限定されている³⁾。したがって、これまで報告されている単純ケトンの脱カルボニル化反応はすべて、化学量論量のロジウム錯体を用いることが必須であった。今回、われわれは単純ケトンの脱カルボニル化がニッケル錯体により進行することを見出した(図3)。⁴⁾ この反応は、単純ケトンの脱カルボニル化反応がロジウム以外の金属種的作用により進行した初めての例である。

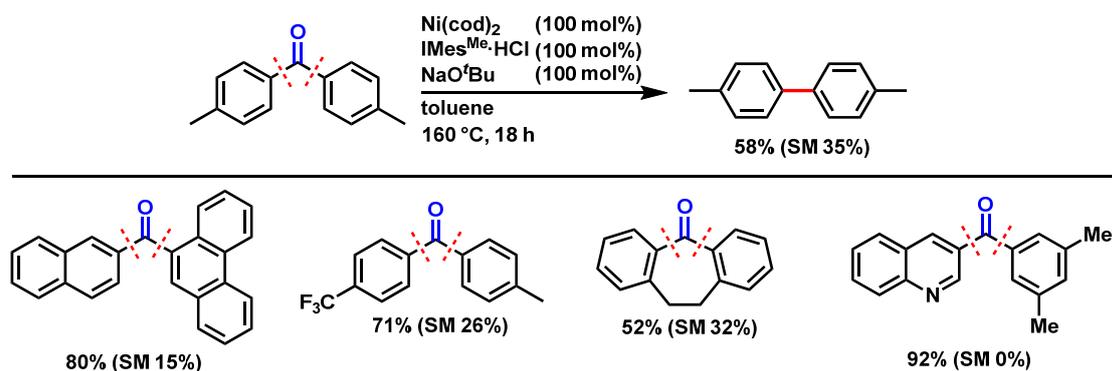
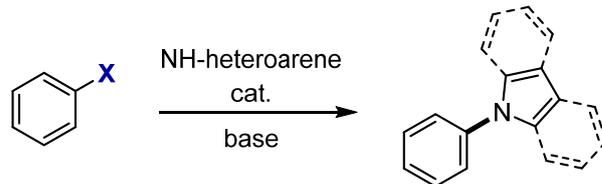


図3 ニッケル錯体による単純ケトンの脱カルボニル化

N-アリアル *N*-ヘテロアレーンは、医薬品化学および材料化学において汎用される構造単位である。現在、これらの化合物の最も一般的な合成法として、ハロゲン化アリアルと *NH*-ヘテロアレーンとの触媒的クロスカップリングがある(図4 a)。⁵⁾ この反応において、ハロゲン化アリアルに代わって安息香酸誘導体をアリアル源として利用できれば、いくつかの利点がある。

(a) Aryl halides as aryl sources (Common approach)



(b) Aromatic acids as aryl sources (This Work)

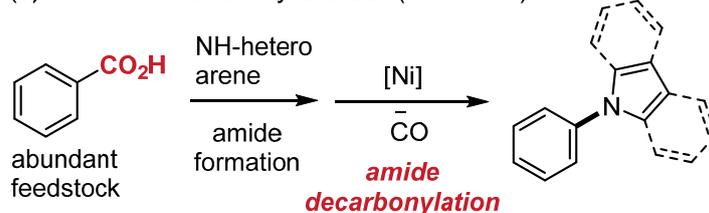


図4 *N*-アリアル-*N*-ヘテロアレーンの触媒的合成法

例えば、安息香酸誘導体は種々の置換基を持つものが広く入手可能である。また、カルボキシル基は、ハロゲン化物を用いる一般的なクロスカップリングの反応条件下では損なわれることがないので、オルソゴナルな分子修飾が可能となる。われわれは、芳香族カルボン酸とピロール誘導体から合成したアミドの脱カルボニル化がニッケル触媒により進行することを見出した (図 4 b)。⁶⁾ 本アミドの脱カルボニル化反応では、ケトンの脱カルボニル化反応で良い結果を与えた IMes^{Me} 配位子や NHC 配位子を用いた場合、目的物は得られるものの、原料の分解も起こり物質収率が低下した。これに対して、 PCy_3 や dcype を用いた場合では、収率は同じように低いが、原料の分解も抑えられた。そこで、これらのホスフィン系配位子を用いて、さらに条件を検討した (図 5)。 PCy_3 を用いた場合では、ニッケル錯体とホスフィンを一当量用いると定量的に脱カルボニル化体を得られた。この場合、反応は 80°C で進行した。一方、 dcype を用いた場合、ニッケルの量を一当量に増やしても、あまり効果がなかったが、触媒量のままで 180°C に温度を上げると、高収率で目的物が得られた。そこで、 dcype を用いる触媒条件を condition A、 PCy_3 を用いる量論条件を condition B とし、以下基質を検討した。

$\text{Ni}(\text{cod})_2$ 20 mol%
ligand 20 mol%
toluene
 120°C , 18 h

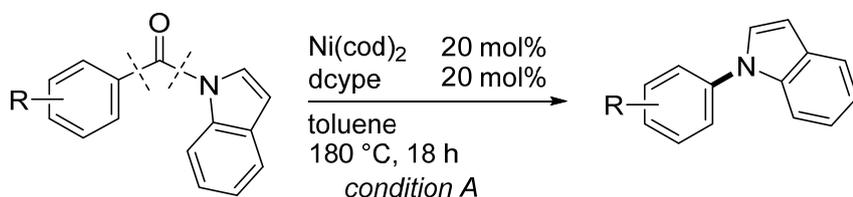
variation from standard conditions	GC yields	
	PCy_3	$\text{Cy}_2\text{P}-\text{PCy}_2$
none	31%	16%
(a) $\text{Ni}(\text{cod})_2$ 1 equiv, ligand 1 equiv	98%	34%
(b) $\text{Ni}(\text{cod})_2$ 1 equiv, ligand 1 equiv, 80°C	>99% (88%) ^a condition B	4%
(c) 180°C	19%	93% (84%) ^a condition A

^a Isolated yield.

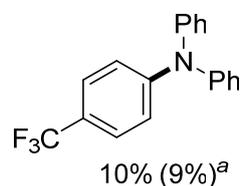
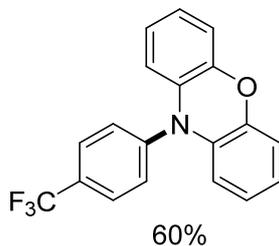
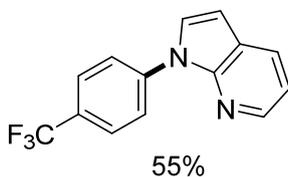
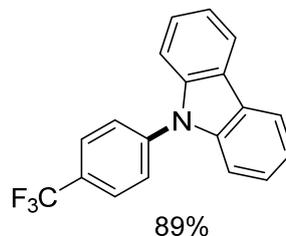
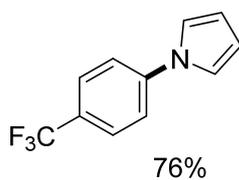
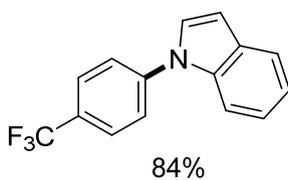
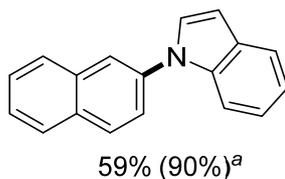
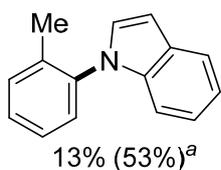
図 5 *N*-アリール-*N*-ヘテロアレーンの触媒的合成法

まず、触媒条件である condition A を用いて基質を検討した (図 6)。その結果、電子求引基である CF_3 基やエステル基をもつアミドでは、収率良く生成物が得られた。一方で、置換基をフェニル基や水素、メチル基に変更したところ、40%程度の原料が残存した。そこで、 PCy_3 を用いる量論反応の condition B に変更して、再検討した。その結果、いずれの基質も大幅に収率が向上した。なお、電子供与基であるメトキシ基では、いずれの条件でも低収率であった。本反応は、オルト位に置換基をもつ基質や、縮合環をもつ基質にも適用可能である。次にアミン部分の適用範囲を検討した。インドールの代わりにピロールやカルバゾール、

フェノキサジン系を有する基質でも、同様に脱カルボニル化し、対応する生成物が得られた。これに対して、*N,N*-ジフェニルアミンを有する基質では、大きく収率が低下した。これは *N,N*-ジフェニルアミンの pK_a が、他のアミンに比べて低いためであると考えられる。



	R = CF ₃	84%
	CO ₂ Me	85%
	Ph	30% (79%) ^a
	H	23% (71%) ^a
	Me	18% (63%) ^a
	OMe	0% (14%) ^a



^a Condition B: Ni(cod)₂ (100 mol%), PCy₃ (100 mol%) at 80 °C.

図6 アミドの脱カルボニル化：基質の適用範囲

反応機構に関する知見を得るために、クロスオーバー実験を行った。その結果、クロスオーバー生成物は全く観測されず、本脱カルボニル化反応が分子内で進行することが示唆

された (図 7)。

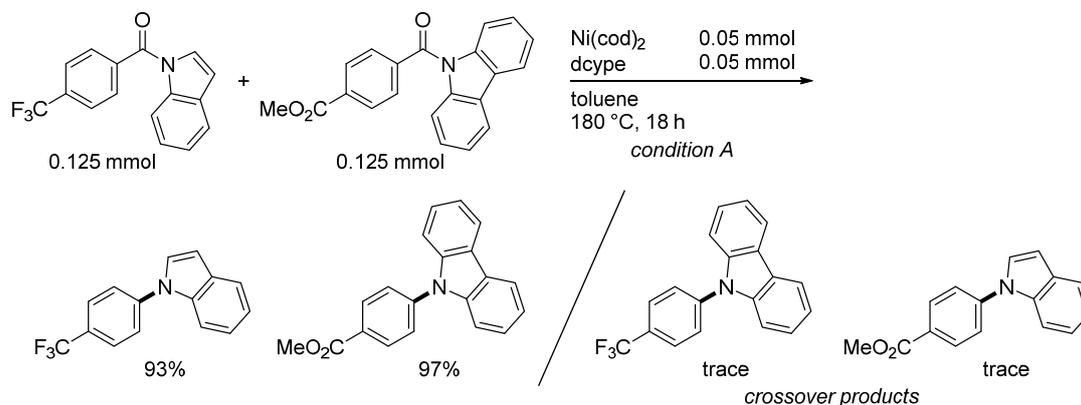


図 7 クロスオーバー実験

さらに、アミド **1a** と 1 当量の $\text{Ni}(\text{cod})_2$ および dcype とを 100°C で反応させたところ、アリールニッケルアミド錯体 **2a** が単離され、X 線結晶構造解析により構造を決定した (図 8)。得られた錯体 **2a** を $120\text{--}180^\circ\text{C}$ に加熱することで、還元的脱離が進行し、*N*-アリールインドールが得られた。これらの結果は、アリールニッケルアミド種からの還元的脱離が、C–N および C–C(=O)結合の開裂よりも高い活性化障壁を有することを示唆している。また脱カルボニル化反応の進行にともない生成する $\text{Ni}(\text{CO})_2(\text{dcype})$ 錯体は、 120°C ではほとんど触媒活性を示さないのに対して、 180°C は脱カルボニル化反応の触媒として作用した。このことから、触媒活性種を生成するための CO 配位子の解離には 180°C の高温が必要であることがわかる。

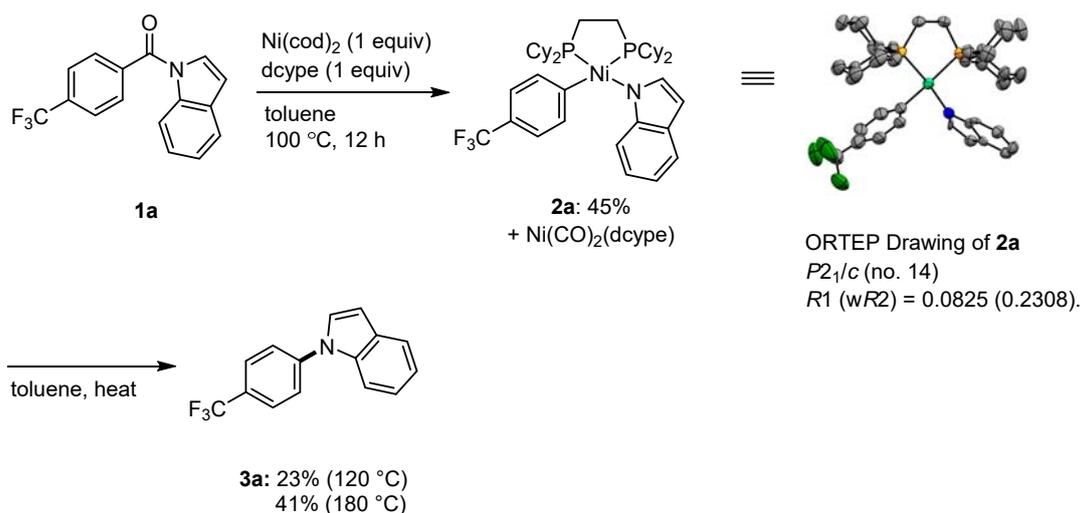


図 8 中間体錯体の単離

これらの結果から考えられる触媒サイクルを図 9 に示す。まず系中で生成する $\text{Ni}(\text{dcype})$ (A)

にアミドの C-N 結合が酸化的付加し、続いてアシル配位子から CO が脱離することで、カルボニルニッケル種 **C** が形成される。この時、dcype のリン原子の 1 つが解離するが、dcype が再び二座配位することを駆動力に CO 配位子の解離が促進され、アリールニッケルアミド錯体 **D** を形成する。最後に還元的脱離により C-N 結合が形成されるとともに **A** が再生する。解離した CO は **A** により捕捉され $\text{Ni}(\text{CO})_2(\text{dcype})$ を与えるが、 180°C では CO の解離も起こり **A** が再生する。

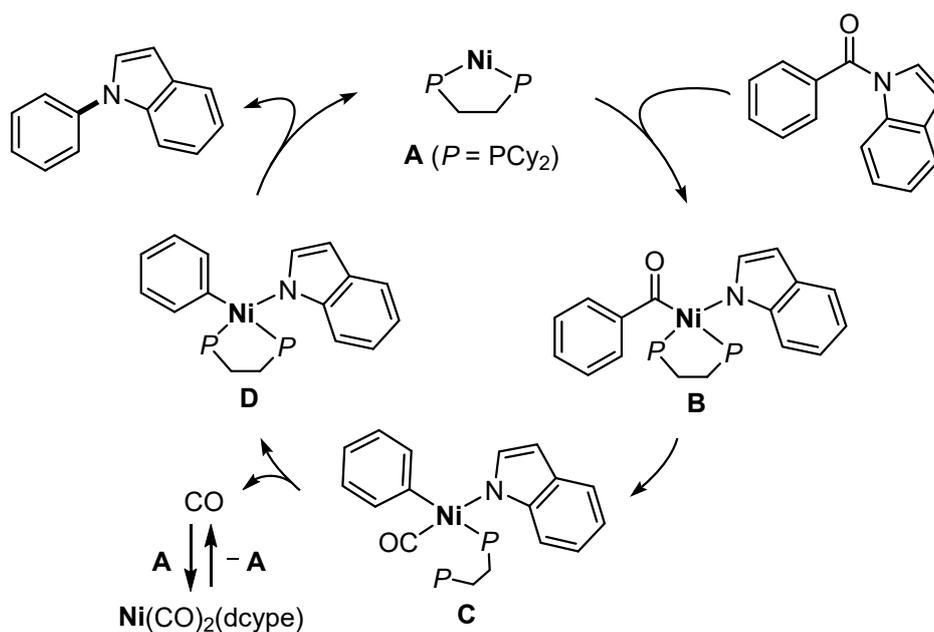


図 9 推定反応機構

ベンズイミダゾール誘導体に対して同様の脱カルボニル化を検討した結果、期待した *N*-アリール化生成物は得られず、C2-アリール化反応が進行した (図 10)。この反応には、脱カルボニル化およびアリール基の 1,2 転位の二つが含まれている。クロスオーバー実験の結果、クロスオーバー生成物が観測されたことから、*N*-アシルインドールの脱カルボニル化とは異なり、分子間で反応が進行していることが示唆される。

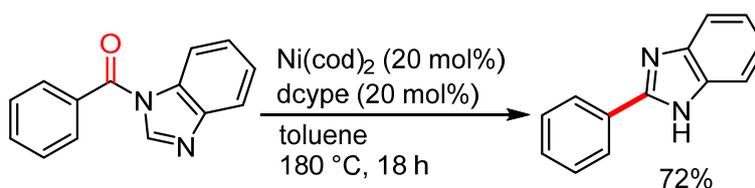


図 10 ベンズイミダゾール基質での転位を伴う脱カルボニル化反応

3. 芳香族カルバメートの脱炭酸反応

近年、アニソールや芳香族エステルなどの不活性フェノール誘導体の炭素-酸素結合活性化を経る触媒反応開発が活発化している。一般に、この種のフェノール誘導体を用いるクロスカップリング反応は、炭素-酸素結合が切断されにくいいため、対応するハロゲン化アリールの反応に比べて困難である。近年、ニッケル触媒を利用することで、この不活性な炭素-酸素結合を活性化できることが報告されている。⁷⁾ 例えば、不活性フェノール誘導体の一つであるカルバメートの炭素-酸素結合がニッケル触媒により活性化され、様々な求核剤とのクロスカップリング反応が進行する (図 1 1、path A)。われわれは、ニッケル触媒存在下、芳香族カルバメートを求核剤の非存在下で反応させると、脱炭酸が進行し、芳香族アミンが得られることを見出した (図 1 1、path B)。⁸⁾ なお、アリルカルバメートをパラジウム触媒存在下で反応させると、脱炭酸アミノ化が進行することが報告されている。⁹⁾ しかし、この反応はアリル位の炭素-酸素結合の切断に限定的であり、芳香族カルバメートを用いる反応は前例がない。

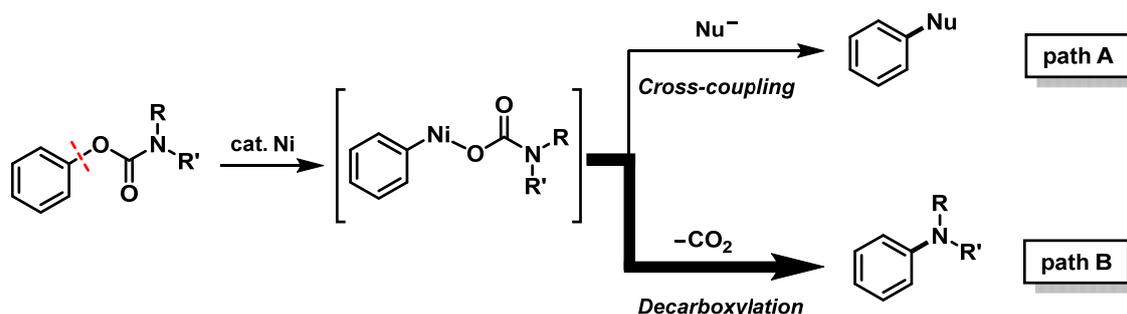


図 1 1 ニッケル触媒による芳香族カルバメートの変換反応

ニッケル触媒と種々の配位子存在下、芳香族カルバメートを基質として用い、炭素-酸素結合活性化を経る脱炭酸反応を検討した。単座のホスフィン配位子では効果がなく、電子豊富な二座のホスフィン配位子を用いた場合に目的生成物は中程度の収率で得られた。そこで、ポリスチレン架橋ビスホスフィン配位子¹⁰⁾を検討したところ、大きく触媒活性が向上することがわかった。ポリスチレン架橋ビスホスフィン配位子の部分構造である 1,2-ビス(ジフェニルホスフィノ)ベンゼンを用いた場合には、全く反応が進行しなかったことから、ポリマーへの固定化が重要であることが示唆された。

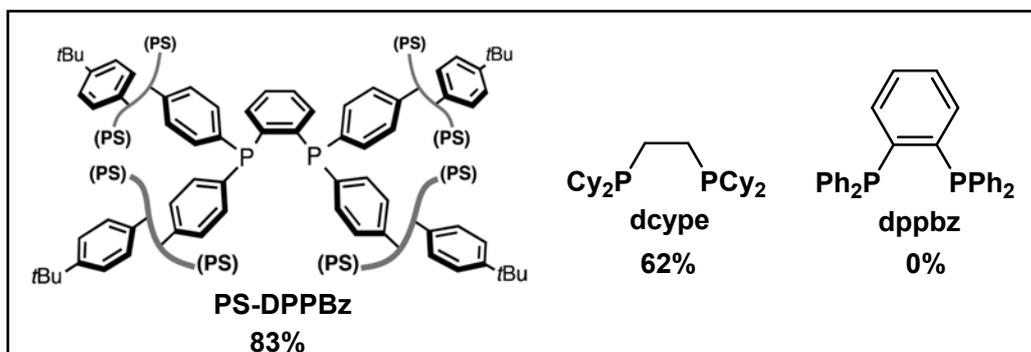
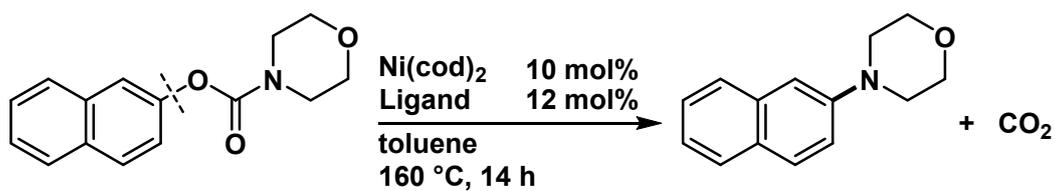


図 1 2 配位子の効果

本反応は、アミンを用いないアミノ化反応であるため、官能基許容性が高い。特筆すべきことに、アミンと反応するようなホルミル基を持つ基質にも適用可能である (図 1 3)。

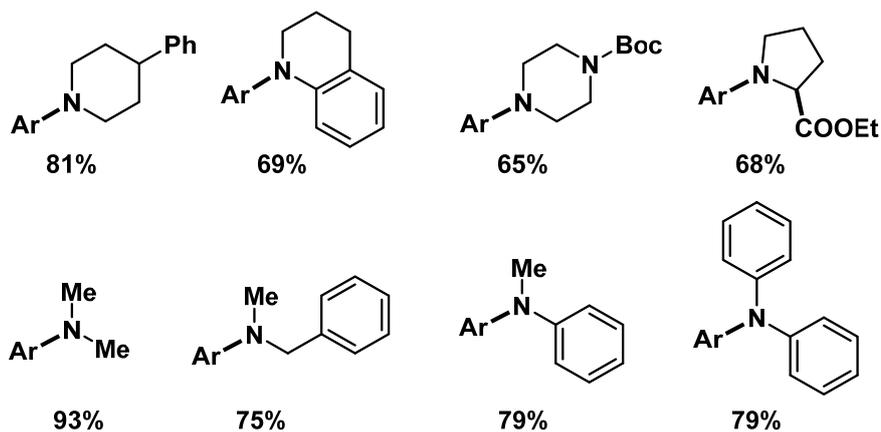


図 1 3 基質の適用範囲

クロスオーバー実験を行ったところ、クロスオーバー型の生成物が 20%程度観測された。また、置換基効果を検討したところ、反応速度は、芳香環上の電子求引基により加速されるのに対して、アミン上の置換基はほとんど影響しないことがわかった。以上の結果を踏まえて、反応機構を次のように推定している。まず、ニッケル錯体へカルバメートの炭素-酸素

結合が酸化的付加する。この酸化的付加錯体から、脱炭酸が進行すると、ニッケルアミド錯体が生成する。続いて、還元的脱離により、アミノ化体を与えるとともに、触媒が再生する。しかし、酸化的付加錯体はイオン対と解離平衡にあるため、クロスオーバー型の生成物が得られる。そして、置換基効果に関しては芳香環上の電子求引基により加速され、アミン上の置換基はほとんど影響しないことから、最初の酸化的付加の段階が律速段階であると考えられる。

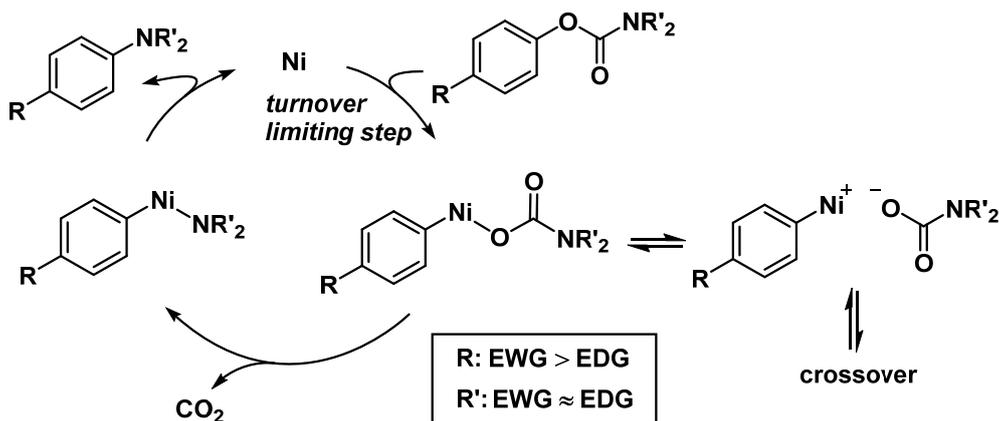


図 1 4 推定反応機構

謝辞

本研究を遂行するにあたり、多大なる援助を賜りました公益財団法人篷庵社および財団関係者の皆様に深く感謝します。中でも、ご推薦を賜りました大阪大学名誉教授の村橋俊一先生には厚く御礼を申し上げます。また、ポリマー担持ホスフィン PS-DPPBz のサンプル供与頂きました北海道大学の澤村正也先生、岩井智弘先生に深く感謝します。

文献

- 1) Murakami, M.; Amii, H.; Ito, Y. *Nature* **1994**, *370*, 540.
- 2) Daugulis, O.; Brookhart, M. *Organometallics* **2004**, *23*, 527.
- 3) Dermenci, A.; Whittaker, R. E.; Gao, Y.; Cruz, F. A.; Yu, Z.-X.; Dong, G. *Chem. Sci.* **2015**, *6*, 3201 and references therein.
- 4) Morioka, T.; Nishizawa, A.; Furukawa, T.; Tobisu, M.; Chatani, N. *J. Am. Chem. Soc.* **2017**, *139*, 1416.
- 5) (a) Surry, D. S.; Buchwald, S. L. *Chem. Sci.* **2010**, *1*, 13. (b) Beletskaya, I. P.; Cheprakov, A. V. *Organometallics* **2012**, *31*, 7753.
- 6) Morioka, T.; Nakatani, S.; Sakamoto, Y.; Kodama, T.; Ogoshi, S.; Chatani, N.; Tobisu, M. *Chem. Sci.* **2019**, *10*, 6666.
- 7) For example: Tobisu, M.; Chatani, N. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1717.
- 8) Nishizawa, A.; Takahira, T.; Yasui, K.; Fujimoto, H.; Iwai, T.; Sawamura, M.; Chatani, N.; Tobisu, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2019**, *141*, 7261.
- 9) Weaver, J. D.; Recio, A., III; Grenning, A. J.; Tunge, J. A. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 1846.
- 10) Iwai, T.; Harada, T.; Shimada, H.; Asano, K.; Sawamura, M. *ACS Catal.* **2017**, *7*, 1681.

サラシノールをシードとする高活性スルホニウム塩型食後過血糖改善薬の
合成と活性評価

近畿大学薬学部 田邊元三

軸不斉を活かした医薬品の分子設計 —高活性化化合物の創製—

東京理科大学薬学部
高橋秀依

1. はじめに

医薬品は生体内の標的分子と相互作用して薬理活性を示す。生体はキラルなタンパク質、糖質、脂質などでできており、医薬品のキラリティーは生体によって厳密に認識される。一般に医薬品のキラリティーは不斉炭素に基づくことが多く、もっぱら不斉炭素に由来する中心不斉の制御に力点がおかれている。しかし、医薬品や生理活性物質のもつアミド構造には軸不斉が潜在し、安定な異性体として単離されうることはあまり知られていない。医薬品の構造に多く含まれるアミドの軸不斉を表出させ、立体構造を明らかにすることで、より高い生理活性を示す医薬品の分子設計及び合成に役立つ情報を得ることができる。

2. アミドの軸不斉

一般にアミドの化学構造式ではその C-N 結合が単結合で示される。そのため、C-N 結合が C-C 結合と同様にくるくると回転しているというイメージを私たちに持たせるが、実際にはそうではない。アミドの窒素上の非共有電子対は隣のカルボニル基との共鳴構造を形成するため、C-N 結合は二重結合性を示す (図 1)。このことは、アミドが塩基性を示さず、

ほぼ中性であることから明らかである。また、X線結晶構造解析の結果から、窒素の結合角の合計は 360°に近く、窒素はほとんど sp^2 混成であると言ってよい。以上のことから、アミドはアルケンやベンゼンと同様に平面性の高い構造と考えるべきである。したがって、アミドにベンゼン環が直結した構造であるベン

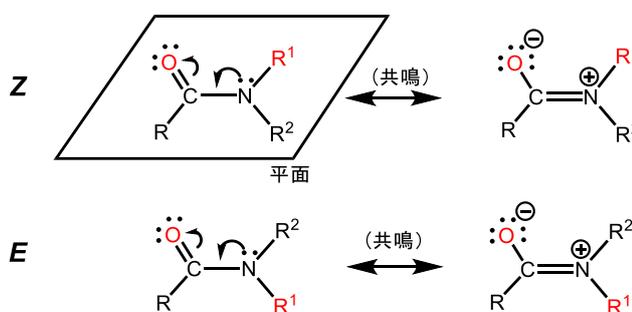


図 1 アミドの共鳴

ズアミドやアニリドでは、図 2 に示すように、①の N-C=O 結合軸および ②の Ar-N(C=O) 結合軸の 2 つの軸の回転に基づく異性体が理論上存在する。①の結合軸の回転は、図 1 に示したアミドの回転異性体である E/Z-ジアステレオマーをもたらす。

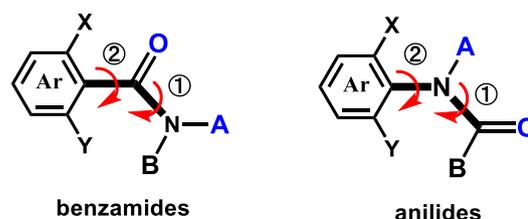


図 2 ベンズアミド及びアニリドの結合軸

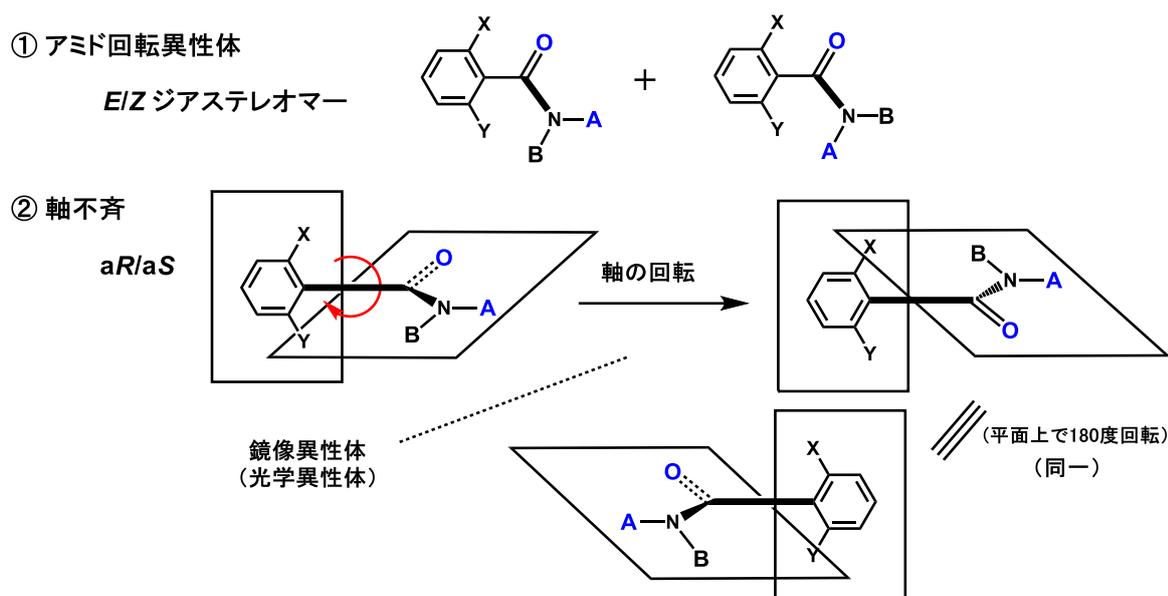


図3 結合軸の回転による軸不斉異性体

一方、ベンゼン環のオルト位の置換基によって②の結合軸の回転が妨げられると、ベンゼン環とアミドの2つの平面が交差した(aR)/(aS)-軸不斉異性体が生じる(図3)。その結果、合計4つの立体異性体が存在することになるが、これらは立体配座(コンホメーション)の変化に基づく動的な異性体であり、その安定性は、周囲の置換基の大きさによる影響を大きく受ける。結合軸の回転に必要なエネルギー障壁(ΔG^\ddagger)が約100 kJ/mol以上であれば、室温でも立体異性体の単離が可能となる。一方、結合軸の回転に対するエネルギー障壁が低く、通常では異性体を分離できない場合でも、生体内の標的分子と相互作用する時は、特定の立体配座(コンホメーション)になって認識されていることが多いと思われる。軸不斉異性体は、ビアリアル類がよく知られているが、アミド構造のもたらす平面性に潜在する軸不斉を生物活性と関連させた研究はこれまであまり行われていなかった¹⁾。

3. アミドの軸不斉と生物活性

これまでに共同研究者である夏莉英昭先生が明らかにした軸不斉異性体とその生物活性の一部を図4にまとめる(NK1受容体拮抗作用を示す化合物**1**²⁾及び**2**³⁾、GABA_Aアゴニスト活性を示す化合物**3**⁴⁾、ACAT阻害作用を示す**4**⁵⁾)。化合物**2**以外は、中心不斉を持たない化合物であり、一見すると軸不斉異性体の存在が見過ごされそうであるが、すべてにおいて軸不斉異性体が単離され、異性体間の生物活性に差が認められた。生体成分は、軸不斉に由来するキラリティーがもたらす立体構造を厳密に区別することが明らかになった。

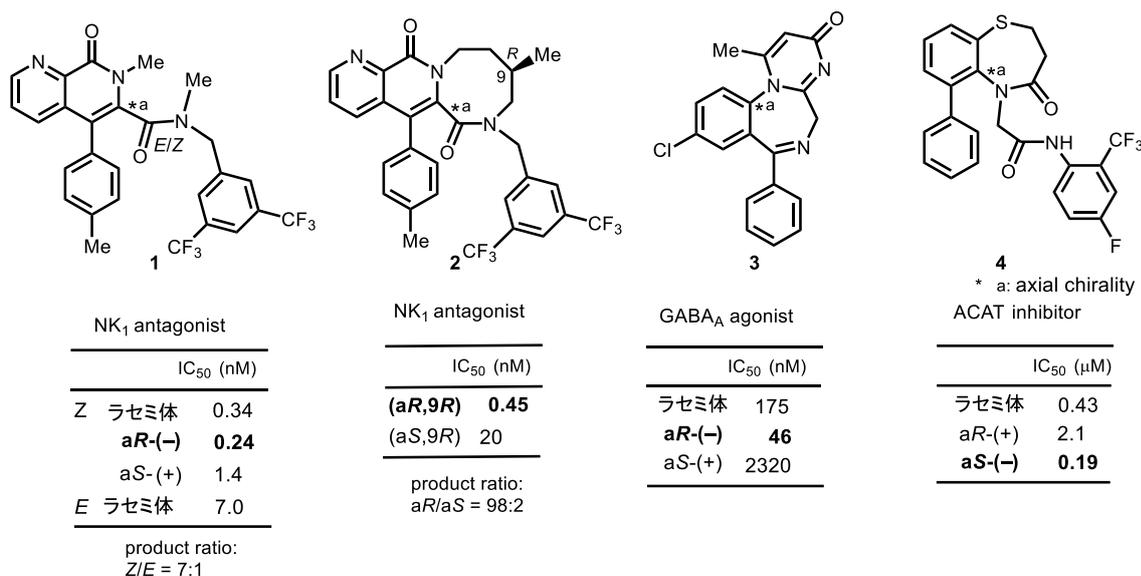


図 4 軸不斉異性体とその生物活性

今回は、ベンゼン環が縮合した含窒素 7 員環化合物について、最近の知見をまとめる。また、フッ素の through-space spin-spin couplings による立体構造の決定についても報告する。

4. 5*H*-Dibenzo[*b,d*]azepin-7(6*H*)-ones の *N*-アシル化体及び *N*-スルホニル化体の合成⁶⁾

最近、5*H*-dibenzo[*b,d*]azepin-7(6*H*)-ones (R¹ = H) の *N*-アシル化体(I)及び *N*-スルホニル化体(II)

(図 5) に T 細胞上のカリウムチャネル阻害作用があることが報告され、免疫抑制効果を示す医薬品候補化合物になる可能性が示唆された⁷⁾。7 員環部分は、5, 6 員環に比べて柔軟な立体化学

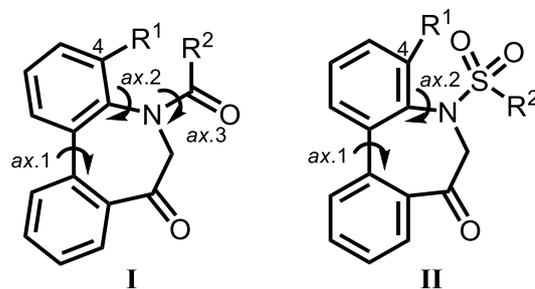


図 5 5*H*-dibenzo[*b,d*]azepin-7(6*H*)-one 誘導體

をもつが、生体との相互作用の場では特定の

コンホメーションをとって活性発現に寄与していると考えられる。そこで、潜在的なキラリティーを含む立体構造と生物活性との相関性を明らかにすることを目的とし、本研究に着手した。特に、アミドと比較してスルホンアミドについては軸不斉の観点からの検討があまりなされていないことから、立体構造を含めて両者を比較することとした。7 員環がもつ柔軟な立体構造の変化を抑え、軸不斉を表出しやすくするため、ビフェニルの 4 位に立体障害 (R¹ = CH₃) を導入した誘導體を分子設計・合成した。最初に、最も短い工程で 5*H*-dibenzo[*b,d*]azepin-7(6*H*)-ones を与える *N*-(1,1'-biphenyl-2-yl)-glycine 誘導體の分子内 Friedel-Crafts アシル化反応による閉環を試みた。すなわち、カルボン酸部位を塩化チオニルと反応させて酸塩化物にしたのち、三塩化アルミニウムによる活性化を経て分子内で 7 員環を形成させるものである。し

かし、*N*-メチル化体、*N*-ベンジル化体、*N*-アセチル化体、及び、*N*-ベンゾイル化体では所望する 7 員環生成物は全く得られず、複雑な混合物を与えることがわかった。反応条件をいくつか検討したが、これらの誘導体ではすべて同様な結果が得られた。これに対し、より電子求引性が高い *N*-トリフル

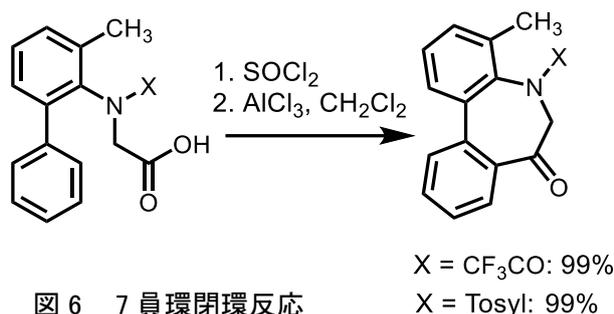


図 6 7 員環閉環反応

オロアセチル化体や *N*-トシル化体では分子内 Friedel-Crafts アシル化反応が進行し、高い収率で 7 員環化合物が得られることがわかった。本閉環反応は、4 位にメチル置換基を有する化合物においても全く問題なく進行し、*N*-トリフルオロアセチル化体や *N*-トシル化体ではほぼ定量的に 7 員環閉環体が得られることが明らかになった (図 6)。窒素上の置換基によってこれほど大きく結果が異なる反応は大変興味深く、その影響を明らかにすべく、*N*-トリフルオロアセチル化体について DFT による Natural Population Analysis 及び ESP 電荷の計算を行った結果、トリフルオロメチル基の電子求引性は、アシル基のカルボニル基に及び、その酸素の求核性を低めていることが示唆された。おそらく、酸塩化物形成の際に働く塩化チオニルが相対的に求核性の高いカルボキシ基のカルボニル酸素のみを攻撃することが閉環反応を進行させる鍵であると考えられる。

5. 5*H*-Dibenzo[*b,d*]azepin-7(6*H*)-ones の *N*-アシル化体及び *N*-スルホニル化体の立体構造⁶⁾

こうして得られた 5*H*-dibenzo[*b,d*]azepin-7(6*H*)-ones (R¹ = H) の *N*-アシル化体(I)について軸不斉を含む立体構造を検討した。図 5 に示したように、*N*-アシル化体(I)は、二つのベンゼン環 (ビフェニル) 及び平面性を有するアミドを持ち、これら三つの平面を連結する結合軸 (sp²-sp² 軸) (ax. 1~3) がもたらす複雑な立体構造をとる可能性がある。すなわち、ax. 1 及び ax. 2 に由来する軸不斉と ax. 3 に由来する *E/Z* 異性体 (ジアステレオマー) である。初めに、¹H NMR を用いて、溶液状態の *N*-アセチル化体、*N*-メトキシカルボニル化体、及び、*N*-トリフルオロアセチル化体の立体構造を解析した。なお、*N*-アセチル化体については、前述のとおり、*N*-(1,1')-biphenyl-2-yl-glycine 誘導体を閉環させて得ることができなかったため、*N*-トリフルオロアセチル化体の閉環体を原料にし、2 段階 (トリフルオロアセチル基の脱保護とアセチル化) を経て合成した (図 7)。¹H NMR

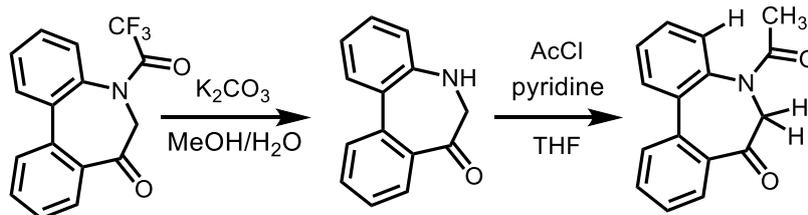


図 7 *N*-アセチル化体の合成

のスペクトルから、存在比に差はあるものの、これらの化合物はジアステレオマーの混合物 (100:2~100:30) として存在することがわかった (図 8)。また、6 位のメチレンの二つの水素が 1H ずつのジアステレオトピックなプロトンとして互いにかなり離れて観察された。このことは、6 位のメチレンがアノトロピック効果を受け、かつ、不斉な (非等価な) 環境にあることを示唆する。これ

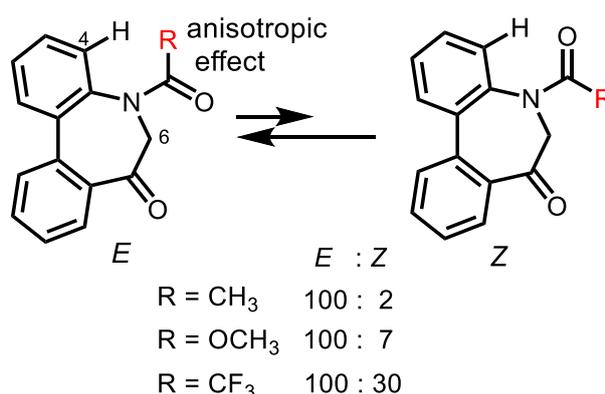
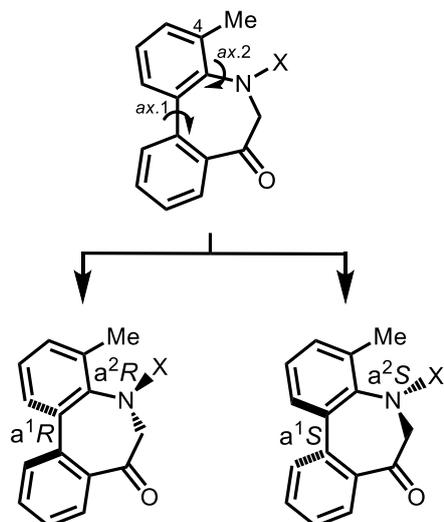


図 8 アミドのジアステレオマー比

らの結果から、¹H NMR で観察されたジアステレオマー混合物はアミドの *E/Z* 異性体 (ジアステレオマー) であると考えた。*N*-アセチル化体の二次元 NMR (NOESY) を測定し、存在比の多いジアステレオマーにおいてアセチル基のメチル基とベンゼン環 4 位の水素との間に 2.65% の相関が認められたため、*E*-体が優先していることがわかった。アミドの *E/Z* 異性体 (ジアステレオマー) の HPLC による分離を試みたが、分離されなかった。なお、DFT 計算によっても *E*-体が優先することを支持する結果が得られており、*N*-アセチル化体のアミドの *E/Z* 異性体 (ジアステレオマー) 間の活性化自由エネルギー (ΔG^\ddagger) は 80 kJ/mol 程度と見積もられたため、*E/Z* 異性体 (ジアステレオマー) を単離することはできないと判断した。両者は室温で平衡状態にあると考えられる。以上の結果から、*N*-アシル化体(I)の立体構造については、存在する三つの平面を連結する結合軸 (sp^2-sp^2 軸) (*ax. 1*~*3*) のうち、7 員環内の *ax. 1* 及び *ax. 2* は連動するためジアステレオマーを与えないが、環外の *ax. 3* は連動せず、*E/Z* 異性体 (ジアステレオマー) が生じ、*E*-体に偏って存在するとわかった。続いて、*N*-スルホニル化体(II)の溶液中での立体構造を ¹H NMR を用いて調べた。*N*-スルホニル化体にはジアステレオマーは認められず、単一の構造として存在することがわかった。一方で、6 位のメチレンの二つの水素はアミドと同様に 1H ずつのジアステレオトピックなプロトンとして観測され、不斉な環境にあることが示唆された。このことから、7 員環内の *ax. 1* 及び *ax. 2* は連動し、一組のエナンチオマーとして存在することがわかった。

次に *N*-アシル化体(I)及び *N*-スルホニル化体(II) に存在する軸不斉異性体について、キラルカラムを用いた HPLC による分離を試みた。*N*-アシル化体(I)及び *N*-スルホニル化体(II) とともに、4 位にメチル基が置換していないものはエナンチオマーが分離されなかった。エナンチオマー間の活性化自由エネルギー (ΔG^\ddagger) が低いため、分離することはできないが、軸不斉は潜在すると考えられる。これに対し、4 位にメチル基が置換した誘導体では、軸不斉異性体が分離・単離された。

表1 軸不斉異性体の安定性



X	ΔG^\ddagger kJ/mol
COCF ₃	124.8
COOMe	116.0
<i>p</i> -Tosyl	127.5
Mesyl	126.3
<i>o</i> -Nosyl	131.6
<i>p</i> -Nosyl	131.6

それぞれのエナンチオマー間の活性化自由エネルギー (ΔG^\ddagger) を調べた結果、*N*-アシル化体(I) 及び *N*-スルホン化体(II) のいずれも高い安定性を示し (116~131.6 kJ/mol)、軸不斉異性体は室温で安定に存在することがわかった (表 1)。4 位に導入されたメチル置換基の立体的な効果によると考えられる。おそらく、4 位メチル置換基とアミドもしくはスルホンアミド部位が互いに立体的に反発しあい、それがビフェニルにまで及んで 7 員環内の *ax. 1* 及び *ax. 2* が連動することにより、7 員環全体の立体構造が規定されることが考えられる。

幸い、*N*-*p*-トシル置換体が単結晶で得られたため、X線結晶構造解析を行った (図 9)。結晶中の立体構造は溶液中のそれとは異なるという指摘を受けることが多いが、私たちは、一般には結晶中の安定な構造は溶液中でも同様であると考えており、結晶構造から多くの情報を得ている。スルホンアミドの結晶構造からも、*ax. 1* 及び *ax. 2* は連動し、ジアステレオマーが存在せず、一对のラセミ体として存在すること、その立体化学は(*a*¹*R**, *a*²*R**)であることがわかった。*N*-アシル化体についても ¹H NMR の結果から示されたように、*ax. 1* 及び *ax. 2* は連動し、ジアステレオマー(*a*¹*R**, *a*²*S**)は存在せず、(*a*¹*R**, *a*²*R**)で存在すると考えられる。また、

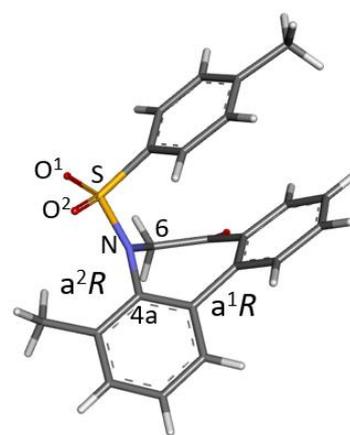


図 9 *N*-トシル誘導体のX線結晶構造

ビフェニルのベンゼン環とトシル基のベンゼン環はほぼ平行の向きにそろっており、閉じた構造をとっていることもわかった。ベンゼン環同士の電子的な相互作用によると考えられる。さらに、この結晶構造からスルホンアミドの軸不斉について興味深い知見が得られた。スルホンアミドの窒素の周囲の結合角を合計すると

359.2°になり、窒素はほぼ sp^2 混成軌道をとっている。さらに、N-S 結合の距離は 0.16 nm で二重結合性を示すことから、N-S 結合は平面性をもつことがわかる。これに対して、 $\angle O^1-S-N-C6$ 、及び、 $\angle O^2-S-N-C4a$ の二面角はそれぞれ -44.90° 、 $+12.64^\circ$ であり、二つの S=O 結合は N-S 結合が形成する平面と同一平面ではなく、これをまたぐような配置をとっている。このことは、スルホンアミドにはアミドで認められる *E/Z* 異性体 (ジアステレオマー) が 1H NMR スペクトル中に認められないという前述の結果とも一致する。アミドの場合は、窒素の非共有電子対の共鳴による C-N 結合の平面性が軸不斉をもたらす要因であるが、スルホンアミドでは、N-S 結合単独の平面性が要因と考えられる。一般にスルホンアミドはアミドと類似していると考えられているが、軸不斉については本質的に異なるのかもしれない。さらに、5*H*-dibenzo[*b,d*]azepin-7(6*H*)-one の *N*-アシル化体(I)及び *N*-スルホン化体(II)について認められた *ax. 1* 及び *ax. 2* の運動性について、モデル化合物として *N*-アセチル化体を用いて計算化学により解析した (図 10)。図 10 では、*ax. 1* 及び *ax. 2* の回転によって生じるコンホメーションについて、エネルギーが高い部分を赤、低い部分を青で示しているが、安定構造として存在しうる曲面上の極小点 (ローカルミニマム) は、M1 (a*S*, a*S*) 体と M2 (a*R*, a*R*) 体であり、これらのジアステレオマーである M3 (a*S*, a*R*) 体と M4 (a*R*, a*S*) 体はエネルギーが高く不安定であることがわかる。*ax. 1* 及び *ax. 2* は協奏的に回転してコンホメーションを変化させると考えられる。

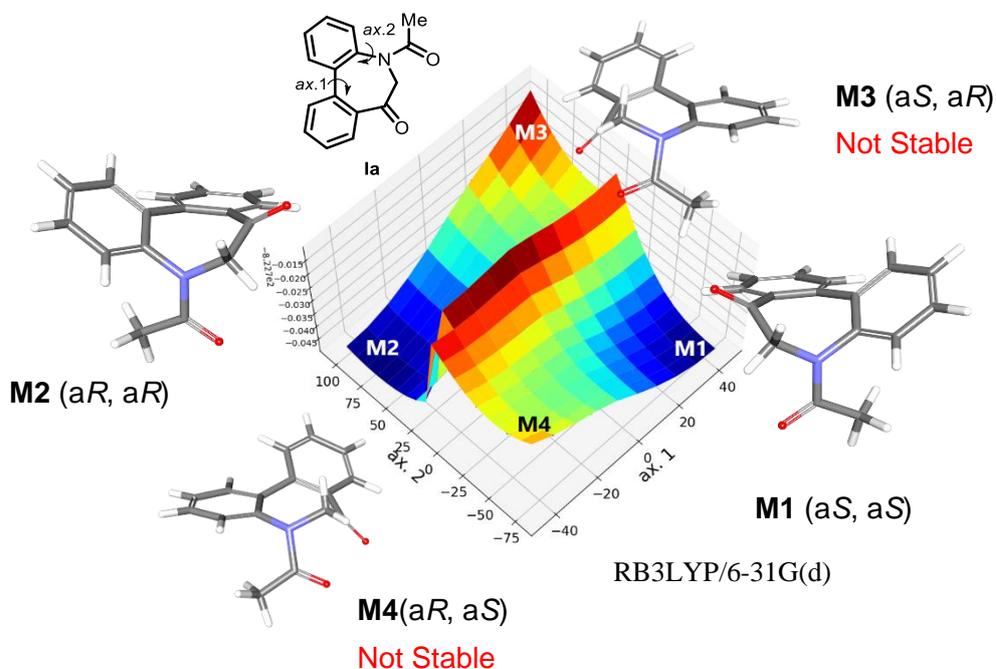


図 10 結合軸の運動性

なお、生物活性については、予備的な検討ではあるが、*N*-*p*-トシル置換体についてカリウムチャンネル阻害作用を調べた。ラセミ体とそれぞれのエナンチオマーはすべて、閉じた状態のイオンチャンネルに作用することがわかり、左旋性を示すエナンチオマーの方が右旋性を示すエナンチオマーよりも高い活性を示すことが明らかになった。今後、窒素上の置換基の異なる様々な誘導体について検討する予定である。

6. Through-space spin-spin coupling⁸⁾

最近の創薬ではフッ素の特徴を活かした分子設計がなされており、20%以上の医薬品がフッ素を含有することが知られている。NMRにおけるフッ素の特徴的な性質の一つに、空間を通して¹H や ¹³C と相互作用する、核スピン-スピンカップリングによる分裂があり、Through-space spin-spin coupling (TSC) と呼ばれる⁹⁾。TSCは、非共有電子対を持つ¹⁹Fとその近傍の元素の距離がそれぞれの van der Waals 半径を合計した長さよりも短い場合に観測される。両者をつなぐ化学結合数が6まではTSCが観測された例が報告されているが、結合の数にかかわらず、両者が空間的に近ければTSCが観測されると考えてよい。TSCは1960年代に見出され、1980年代には精力的に研究されたが、21世紀になってからは有機化学分野ではあまり注目されなくなっている。しかし、TSCによって化合物の立体構造の推定ができるため、フッ素を含有する医薬品の構造解析や分子設計に活用すべきと考える。

フッ素含有の医薬品代謝物を合成する過程で、中間体として合成した二つの2-フルオロアセトフェノン誘導体の¹H NMRにおいて、カルボニルのα位の水素が通常認められる分裂よりも多く分裂したピークとして観測された(図11(a))。この余分な分裂はフッ素の影響によると考えられたため、フッ素のデカップル測定を行った。予想通り、両者においてカップリング定数が3.3 Hz程度の分裂が消失した(図11(b))。

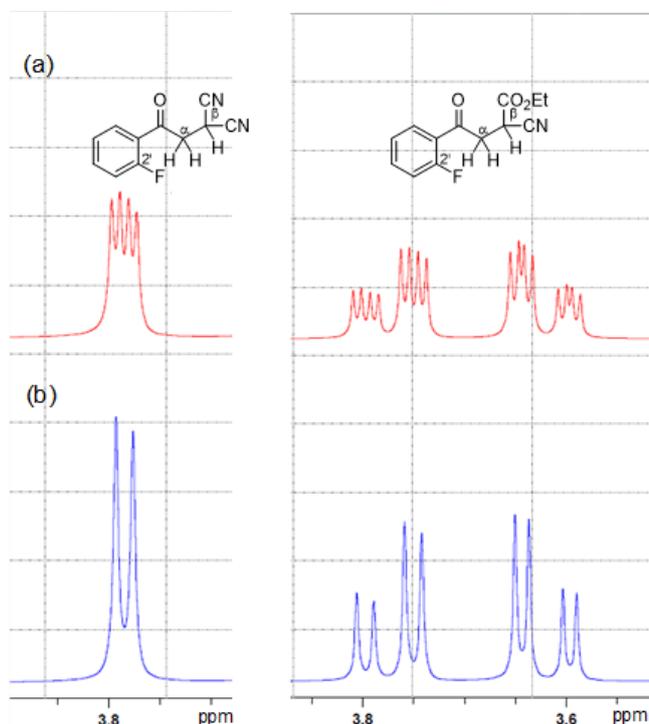


図11 α-メチレンプロトン (a) TSC (b) デカップル

結合を介した ^1H - ^{19}F のカップリング **Through-bond coupling** では、一般に、5 結合を介するとカップリング定数が 1 Hz 以下になることが知られている。これらの化合物では 5 結合を介するにもかかわらず、より大きな 3.3 Hz 程度のカップリング定数が認められることから、 ^1H - ^{19}F の TSC が認められると考えた。このような TSC が 2'-フルオロアセトフェノン誘導体に特有な現象であるか確認するために、図 12 のような化合物について検討し、

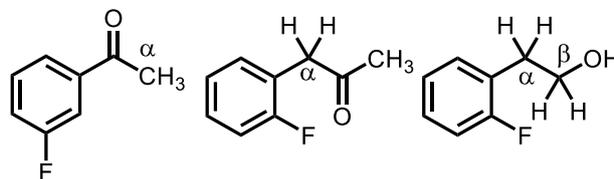


図 12 TSC が認められない化合物

TSC は認められないことがわかった。TSC は、

非共有電子対を持つ ^{19}F とその近傍の元素の距離がそれぞれの van der Waals 半径を合計した長さよりも短い場合に観測されることから、これらのアセトフェノン誘導体ではカルボニル基とフッ素が互いに反対を向き、結果としてカルボニルの α 位の水素がベンゼン環のオルト位のフッ素に空間的に近くなった立体配座 (*s-trans*) をとることが示唆された。このような TSC が 2'-フルオロアセトフェノン誘導体一般に認められるものであるか、 ^1H NMR 及び ^{13}C NMR を測定し、カルボニルの α 位の ^1H 及び ^{13}C のピークの分裂の様子を調べた。ベンゼン環や α 位の置換基を様々に変え、

測定する溶媒も変えて検討したが、すべてにおいて TSC が認められ、2'-フルオロアセトフェノン誘導体は溶液中でもつぱら *s-trans* の立体構造をとる (*s-cis* は 5% 以下) ことが明らかになった (図 13)。

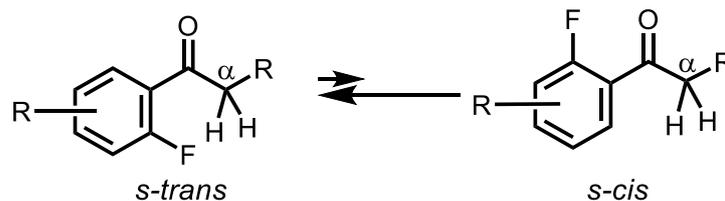


図 13 2'-フルオロアセトフェノン誘導体の立体配座

このような *s-trans* 配座の優先性は計算化学や X 線結晶構造解析によっても支持されたが、最も大きな要因としては図 14 に示した dipole moment の影響であると考えている。C-

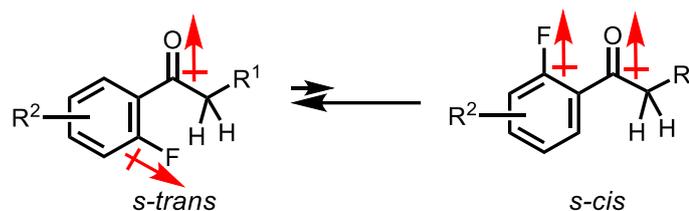


図 14 2'-フルオロアセトフェノン誘導体の dipole moment

F 結合及びカルボニル基は大きな dipole moment をもつが、*s-cis* 配座では dipole moment の向きがそろうため、分子全体として大きな値になる。一方で、*s-trans* 配座では、分子全体として *s-cis* 配座よりも小さい値になるため、より安定な *s-cis* 配座が優先すると考えられる。

TSC は、今回とりあげた 2'-フルオロアセトフェノン誘導体以外にも認められる。今後はそれらについても検討していく予定である。

7. おわりに

アミドの軸不斉は医薬品の構造中に潜在しており、その表出によって活性を示す立体構造について情報を得ることができる。軸不斉は動的な不斉であり、お互いが連動したり、中心不斉の影響を受けてその立体化学を変える。異性体を分離できない分子でも、標的分子と相互作用するときには特定の立体配座(コンホメーション)になって認識されるはずである。今後は柔軟な分子の動きを医薬品の分子設計及び合成に活用し、創薬化学研究の発展に貢献していきたいと考えている。

謝辞

本研究は夏苺英昭先生を初めとする帝京大学薬学部の皆様、東京理科大学薬学部の皆様のご協力により行われました。ここに深謝いたします。本研究申請においてご推薦賜りました東京大学薬学部大和田智彦先生に厚くお礼申し上げます。ご支援を賜りました公益財団法人 蓬庵社並びに関係の皆様にご心よりお礼申し上げます。

- 1) (a) S. R. LaPlante, P. J. Edwards, L. D. Fader, A. Jakalian, O. Hucke, *ChemMedChem*, **6**, 505 (2011); (b) S. R. LaPlante, L. D. Fader, K. R. Fandrick, D. R. Fandrick, O. Hucke, R. Kemper, S. P. F. Miller, P. J. Edwards, *J. Med. Chem.*, **54**, 7005 (2011); (c) A. Zask, J. Murphy, G. A. Ellestad, *Chirality*, **25**, 265 (2013)
- 2) (a) H. Natsugari, Y. Ikeura, Y. Kiyota, Y. Ishichi, T. Ishimaru, O. Saga, H. Shirafuji, T. Tanaka, I. Kamo, T. Doi, M. Otsuka, *J. Med. Chem.*, **38**, 3106 (1995); (b) Y. Ikeura, Y. Ishichi, T. Tanaka, A. Fujishima, M. Murabayashi, M. Kawada, T. Ishimaru, I. Kamo, T. Doi, H. Natsugari, *J. Med. Chem.*, **41**, 4232 (1998); (c) H. Natsugari, *Farumashia*, **45**, 525 (2009)
- 3) (a) Y. Ikeura, T. Doi, A. Fujishima, H. Natsugari, *Chem. Commun.*, **19**, 2141 (1998); (b) H. Natsugari, Y. Ikeura, I. Kamo, T. Ishimaru, Y. Ishichi, A. Fujishima, T. Tanaka, F. Kasahara, M. Kawada, T. Doi, *J. Med. Chem.*, **42**, 3982 (1999); (c) Y. Ishichi, Y. Ikeura, H. Natsugari, *Tetrahedron*, **60**, 4481 (2004)
- 4) S. Lee, T. Kamide, H. Tabata, H. Takahashi, M. Shiro, H. Natsugari, *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 9519 (2008)
- 5) H. Tabata, *Yakugaku Zasshi*, **133**, 857 (2013).
- 6) T. Namba, M. Hotta, H. Tabata, K. Makino, T. Oshitari, H. Natsugari, H. Takahashi, *J. Org. Chem.*, *in press*.
- 7) S. Pegoraro, M. Lang, T. Dreker, J. Kraus, S. Hamm, C. Meere, J. Feurle, S. Tasler, S. Prütting, Z. Kuras, V. S. Grissmer, *Bioorg. Med. Chem Lett.*, 2299–2304 (2009).
- 8) C. Otake, T. Namba, H. Tabata, K. Makino, K. Hirano, T. Oshitari, H. Natsugari, T. Kusumi, H. Takahashi, *J. Org. Chem.*, **86**, 4638 (2021).
- 9) W. R. Dolbier, *Guide to Fluorine NMR for Organic Chemists*, 2nd ed; Wiley-VCH, New Jersey, 29, (2016).

核外輸送因子 CRM1 の新たな機能

医薬基盤・健康・栄養研究所 (NIBIOHN)

細胞核輸送ダイナミクスプロジェクト

岡 正啓

1. はじめに:細胞核輸送について

真核生物の最大の特徴は細胞核が存在することであり、核の周りを囲む核膜によって核と細胞質が分けられている。核内には遺伝情報をもつ DNA が維持され、その情報をもとに細胞質ではタンパク質が合成される。このように真核細胞は、核と細胞質をコンパートメント化することで、細胞質で翻訳されたタンパク質のうち必要なものだけを核内に取り

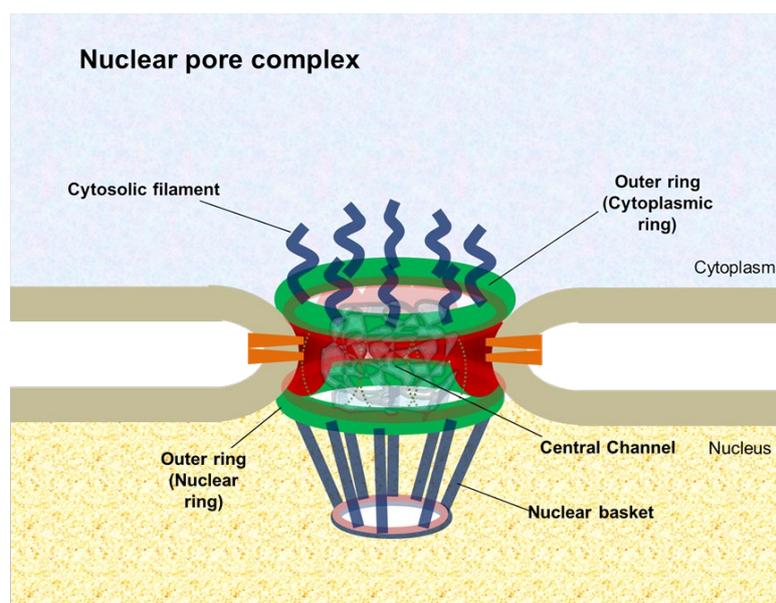


図1 核膜孔複合体の図。核膜孔複合体は核—細胞質間の選択的な物質輸送を担っている。30種類の構成因子（ヌクレオポリン）により形成される。

込むことができる仕組みを持つ。また、核内に留めたくないタンパク質については、積極的に核から細胞質へと排除する仕組みがある。

哺乳動物細胞の核膜上には数千個の小孔（核膜孔）があり、その中には核膜孔複合体（Nuclear Pore Complex: NPC）と呼ばれる巨大な分子複合体が存在している（図1）。核膜孔はイオンや低分子代謝物などの小さな分子を素通りさせるが、タンパク質やRNAなどの生体高分子（タンパク質であれば約40kDa以上）は通さない篩（ふるい）の役割を果たしている。したがってこれらの生体高分子が核膜孔を通過するには核輸送因子と呼ばれるタンパク質の働きが必要になる（図2）。

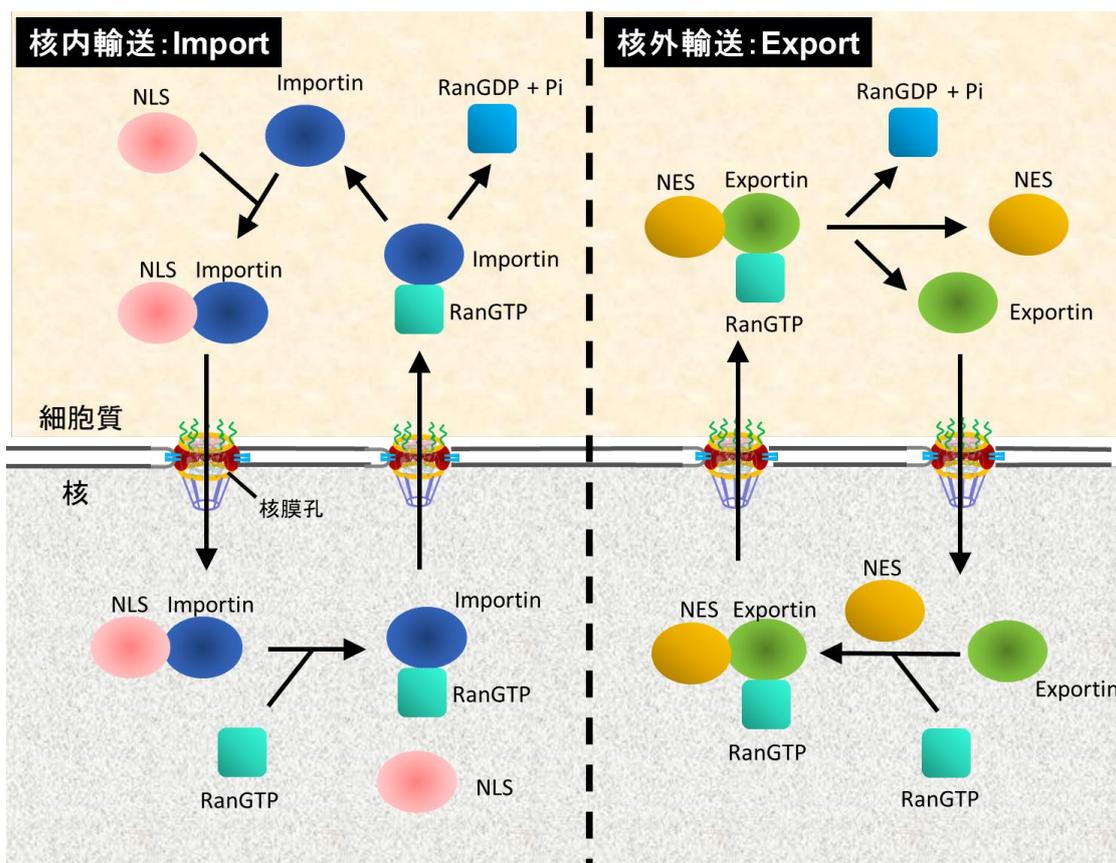


図2 核輸送の分子メカニズム

核輸送因子は哺乳動物で約20種類存在し、それぞれ細胞質から核、または核から細胞質の一方、あるいは双方向に分子を輸送する。細胞質から核へ分子を運ぶ輸送因子は importin、核から細胞質へ分子を運ぶ輸送因子は exportin とそれぞれ総称される。細胞質から核に運ばれるタンパク質は核移行シグナル (Nuclear Localization Signal; NLS) と呼ばれる塩基性アミノ酸が並んだ配列を持ち、それを importin が認識して結合し輸送を行う。また、核から細胞質へ輸送されるタンパク質は核外移行シグナル (Nuclear Export Signal; NES) を保持し、exportin が結合して核から細胞質へと輸送する (図2)。CRM1(chromosome region maintenance 1)は、これまで最もよく研究されている exportin として知られている。またこれらの核輸送の方向性の決定には低分子量Gタンパク質 Ran が重要な働きをしている。Ran は GTP 結合型 (RanGTP) あるいは GDP 結合型 (RanGDP) の状態で存在するが、核内では RanGTP、細胞質では RanGDP が、それぞれドミナントに存在している。核内、すなわち RanGTP 存在下では importin と NLS タンパク質が乖離するのに対し、exportin と NES タンパク質は結合する。したがって、RanGTP/RanGDP の核膜を介した濃度勾配が、輸送

の方向性を決める重要な要素となる¹⁾。

このような仕組みによって核と細胞質間の分子輸送を適切に制御することで、真核生物特有の多様な細胞機能やストレス応答が可能になったと考えられる。一方で、核膜孔や輸送因子の異常や、タンパク質の核-細胞質間局在を変えてしまう遺伝子変異が、様々な病態と関連することがわかってきている。その一例として、以下の変異型 NPM1 が挙げられる。

2. 変異型 NPM1

変異型 NPM1 は急性骨髄性白血病 (acute myeloid leukemia : AML) の約 30% という、非常に高頻度にみられる遺伝子変異である²⁾。NPM1 (Nucleophosmin) は核小体に局在する多機能タンパク質であり、リボゾームの生合成や DNA 修復など、多様な機能に関わっている。ところが、AML 患者では遺伝子変異により C 末端付近に 4 塩基が挿入され下流のフレームシフトが起きる結果、偶然に核外移行シグナル (NES) が生成する。したがって、変異型 NPM1 は CRM1 によ

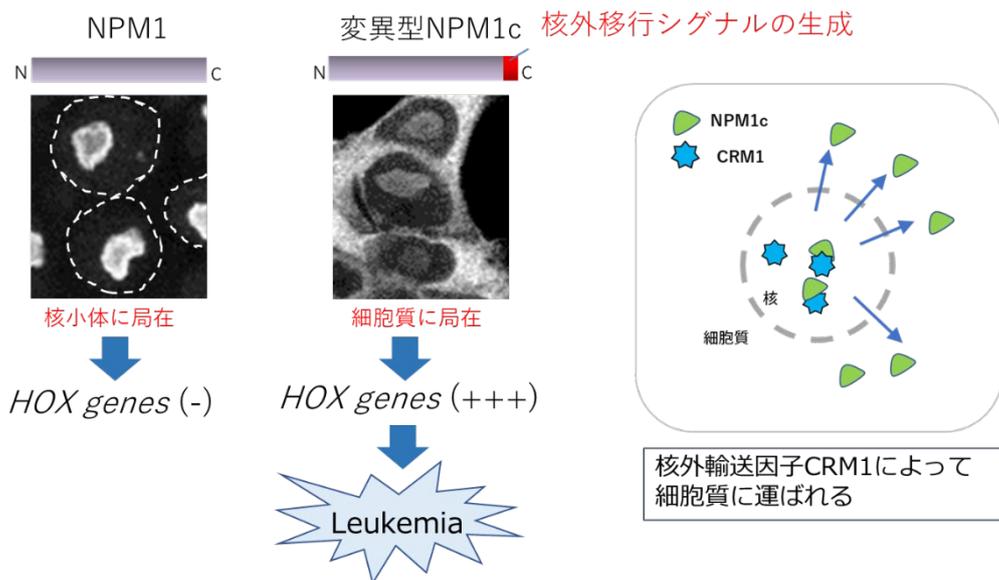


図3 変異型NPM1

って核小体から細胞質へ運ばれる (図3)。その細胞内局在を大きく変化させた変異型 NPM1 が、どのような機能を持っているのかは長い間不明であったが、近年、変異型 NPM1 が白血病と関連する *HOX* (ホメオボックス) 遺伝子を活性化させるということが報告された³⁾。しかしながら、細胞質に局在する変異型 NPM1 が、何故 *HOX* 遺伝子を活性化できるのか、その分子メカニズムについては、全くわかっていなかった。

3. CRM1 の新たな機能

我々は以前、CRM1 が核外輸送因子として働く以外に、核内でクロマチン結合因子として働くことを明らかにしていた⁴⁾。さらに、CRM1 が核内で *HOX* 遺伝子領域に選択的に集積して存在していることを見出していた(図4)。このことは、

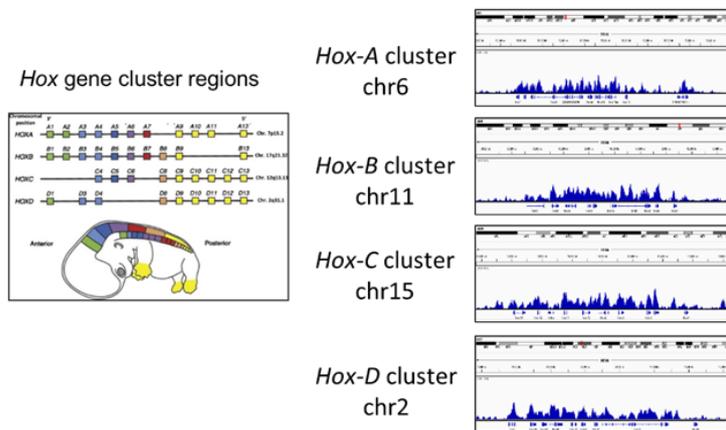
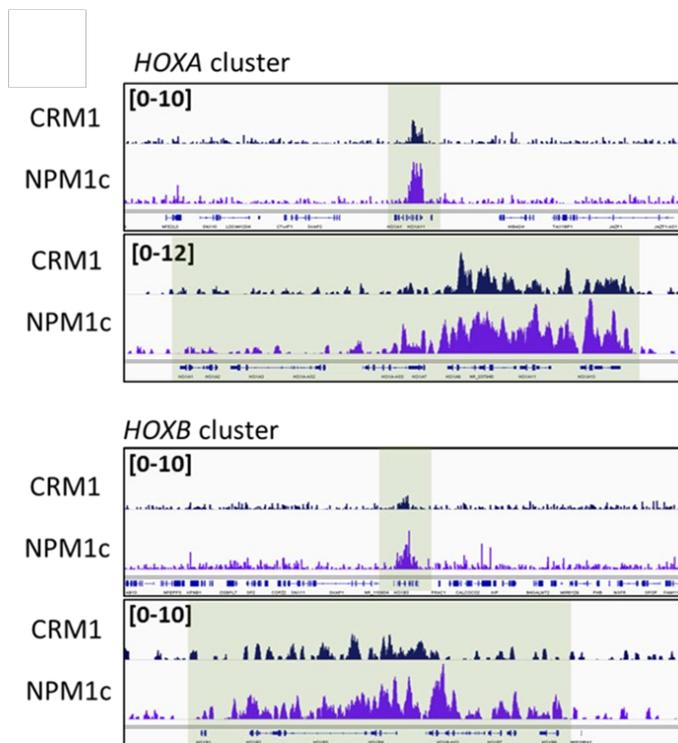


図4 CRM1はHOX領域に結合している

変異型 NPM1 が CRM1 によって核から細胞質に運ば

れる一方で、核内で *HOX* 領域に結合している CRM1 によりリクルートされ遺伝子発現を活性化している可能性を示唆していた。そこで変異型 NPM1 を発現するヒト急性骨髄性白血病細胞株 OCI-AML3 を対象にクロマチン免疫沈降と次世代シーケンスを組み合わせた ChIP シーケンス法を用いて変異型 NPM1 のゲノム結合部位の解析を行った。その結果、変異型 NPM1 が *HOXA* ならびに *HOXB* クラスター領域に結合していることが明らかとなった。また CRM1 も、ほぼ同じゲノム領域に結合していることが分かった(図5)⁵⁾。

さらに CRM1 と変異型 NPM1 の関連を検証するために、普段、変異型 NPM1 を発現していな



OCI-AML3: NPMc-expressing AML cell

図5 変異型NPM1とCRM1のゲノム上の共局在

い細胞に、異所的に変異型 NPM1 を発現させ、その結合部位を解析した。*HOX* 遺伝子領域に CRM1 が結合して存在することが分かっているマウス ES 細胞に変異型 NPM1 を発現させた安定発現株を取得しゲノム結合部位の解析を行った結果、*HOX* クラスタ上に変異型 NPM1(NPM1c)がリクルートされることが明らかとなった(図6)。それに対し、核外移行シグナルを持たない野生型 NPM1 は *HOX* 領域との相互作用が見られなかった。以上の事から、変異型 NPM1 の核外移行シグナルと CRM1 の相互作用が、変異型 NPM1 の *HOX* クラスタ領域へのリクルートに重要な役割を担っていることが示唆された。

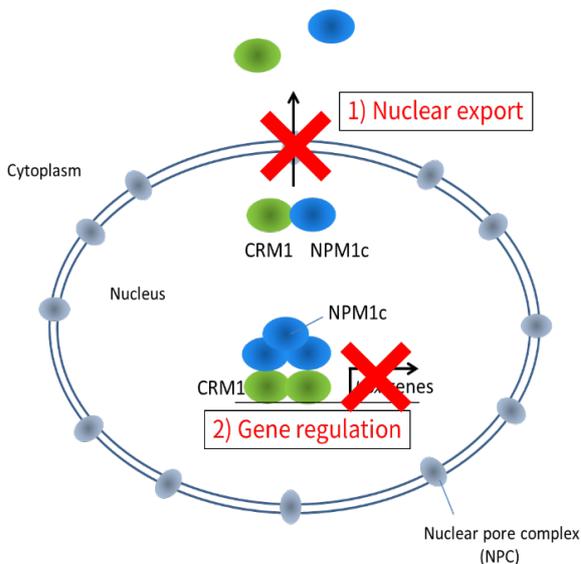
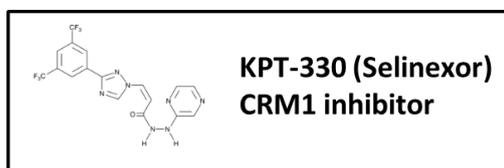


図7 CRM1阻害剤と変異型NPM1

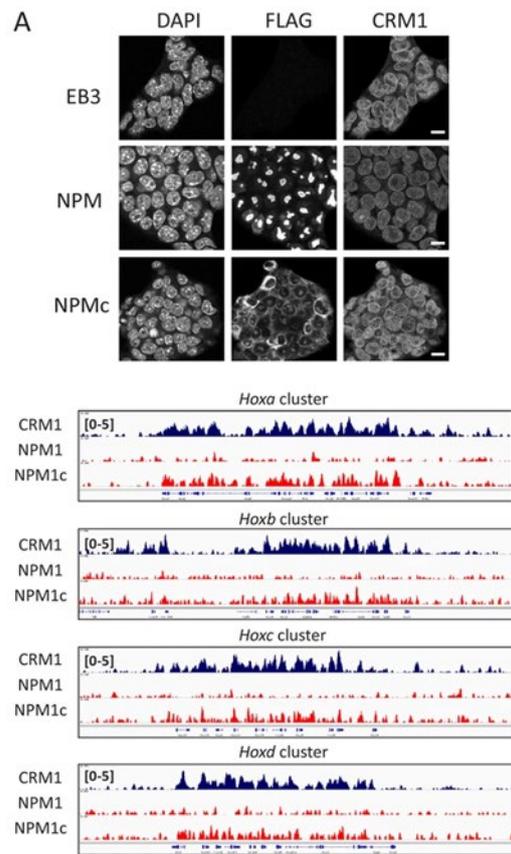


図6 変異型NPM1とNPM1の比較
(A) 免疫染色像 (B) ChIP-seq

4. CRM1 阻害剤の有用性

CRM1 阻害剤は CRM1 とその基質である NES を有するタンパク質の結合を阻害する薬剤として知られている。変異型 NPM1 が CRM1 によって *HOX* 領域へと運ばれるという実験結果から、CRM1 阻害剤により変異型 NPM1 と CRM1 の相互作用を阻害することで、*HOX* 遺伝子活性化を抑制できると考えられた(図7)。そこで OCI-AML3 細胞に CRM1 阻害剤(KPT330: selinexor)処理を行ったところ、変異型 NPM1 の核外輸送が

阻害されるとともに、クロマチンに結合する変異型 NPM1 の減少、ならびに、*HOX* 遺伝子発現の抑制が見られた (図 8)。この結果は、CRM1 阻害剤が変異型 NPM1 を有する白血病に対して有用である可能性を示唆している。また実際に、変異型 NPM1 を発現するモデルマウスを用いた研究で、CRM1 阻害剤の有用性が報告されている³⁾。

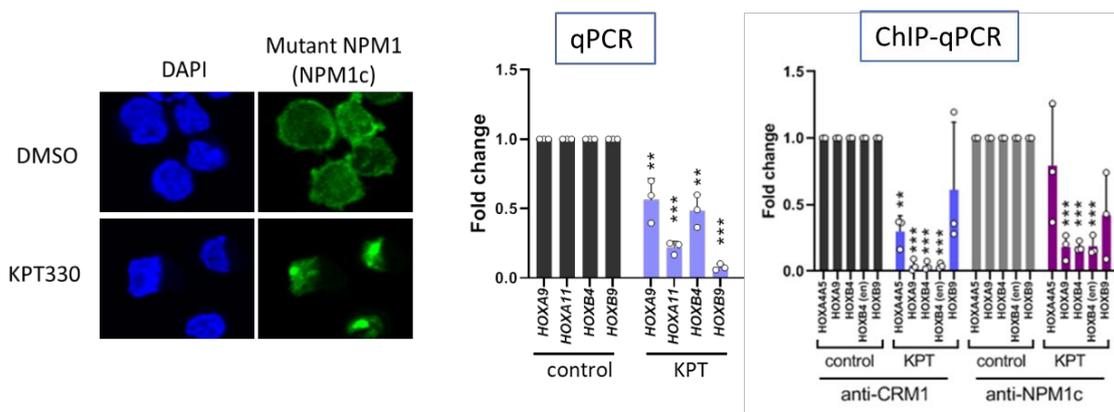


図 8 CRM1阻害剤による変異型NPMの機能阻害
(左) 免疫染色像 (中央) 定量的PCR (右) ChIP-qPCR

5. ヌクレオポリン融合遺伝子と CRM1

核膜孔を構成する約 30 種類のタンパク質はヌクレオポリンと総称される。ヌクレオポリン遺伝子は、急性白血病において転写因子やクロマチン結合因子など全く異なる機能を持つ他の遺伝子と融合し、その融合遺伝子産物が白血病に寄与することが知られている。ヌクレオポリンのうち、特に Nup98 と Nup214

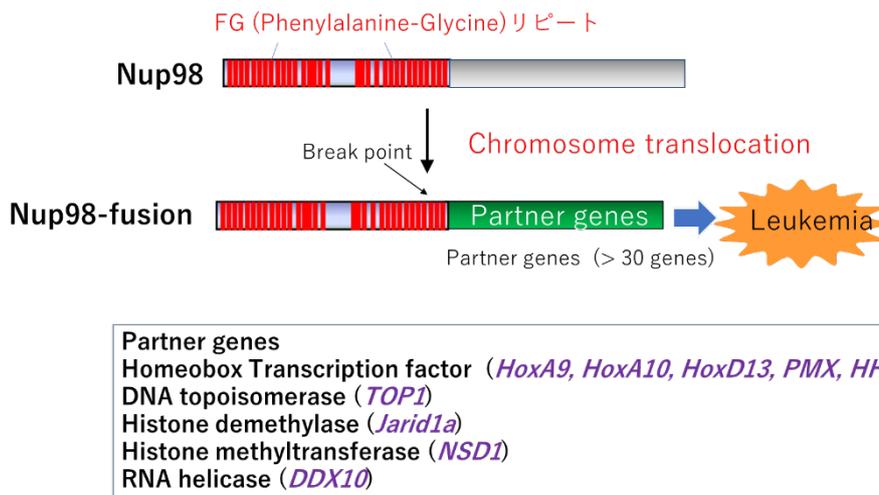
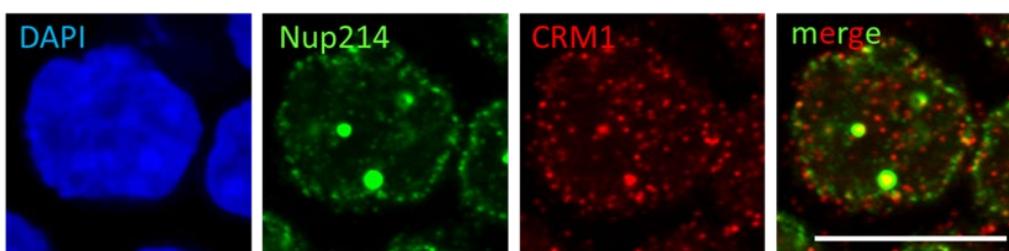


図 9 Nup98融合遺伝子と白血病

のみが、急性骨髄性白血病(AML)や骨髄異形成症候群(MDS : Myelodysplastic Syndromes)、T細胞型急性リンパ性白血病(T-cell acute lymphoblastic leukemia (T-ALL)等で融合遺伝子を形成することが知られている (図9)。興味深いことに、Nup98 や Nup214 は、いずれも FG リピートと呼ばれるフェニルアラニンとグリシンの繰り返し構造を持ち CRM1 と相互作用することがよく知られている。さらに、Nup98 融合遺伝子や Nup214 融合遺伝子を発現する病態では、*HOX* 遺伝子が高発現することが知られている。以上のことは、クロマチンに結合している CRM1 が、ヌクレオポリン融合遺伝子による *HOX* 遺伝子活性化に関わっていることを示唆している。そこで、SET-NUP214 を発現するヒト白血病細胞

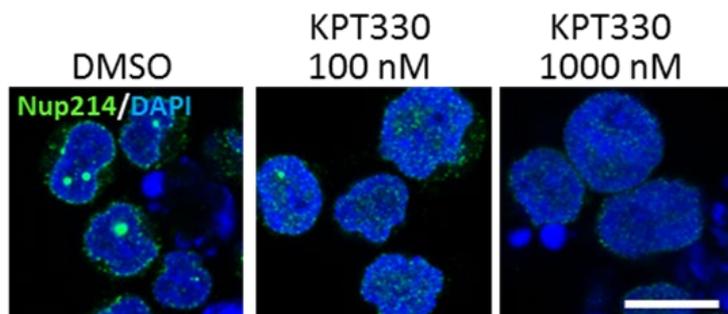


LOUCY細胞では、SET-NUP214ヌクレオポリン融合タンパク質が形成する特徴的な核内ドット構造が見られる。また、このドット構造には核外輸送因子 CRM1が共局在する。

図10 LOUCY細胞の免疫染色像

LOUCY 細胞における、CRM1 の機能について検証を進めた。LOUCY 細胞では、SET-NUP214 が形成する特徴的な核内ドット構造と CRM1 の共局在が観察された (図10)。

さらに、CRM1 阻害剤 KPT330 で細胞を処理したところ、核内ドット構造が消失することが分かった (図11)。以上の結果から、SET-NUP214 の構造維持



LOUCY細胞をKPT330で処理 (24時間) すると、核内ドット構造が消失する。

図11 LOUCY細胞におけるKPT330の影響

や機能における CRM1 の重要性が示唆された。そこで SET-NUP214 のゲノム結合部位を解析した結果、SET-NUP214 が *HOXA* および、*HOXB* クラスター領域に特異的に集積して存在していることが明らかとなった。さらに、CRM1 も、ほぼ同じ領域に結合していた。また KPT330 処理を行うと、これらのピークがきれいに消失することが分かった (図 12)。

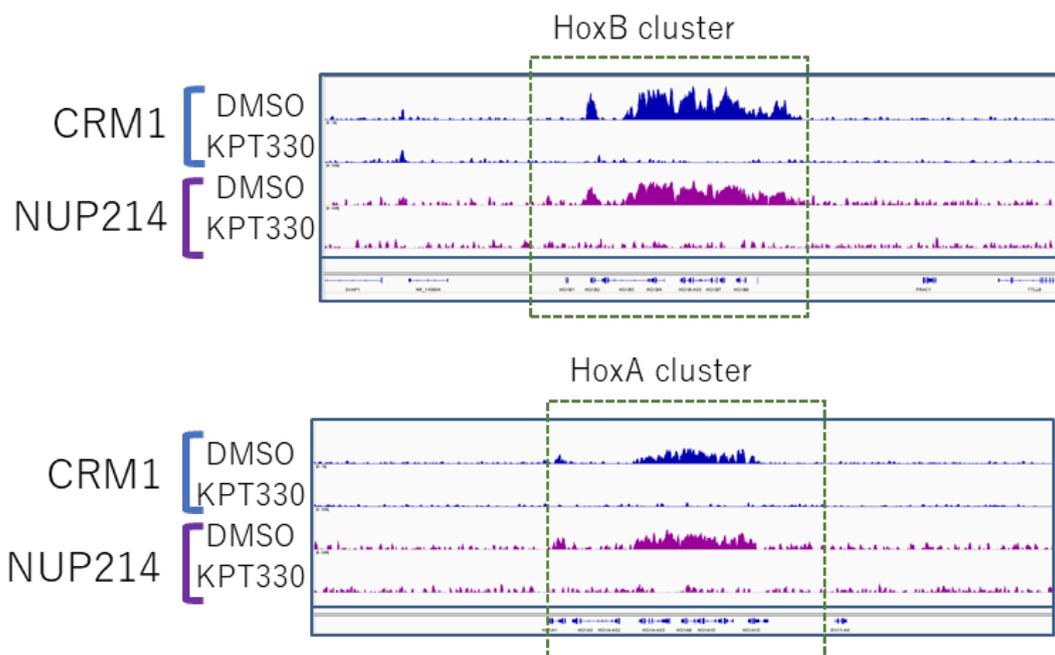


図12 CRM1およびSETNUP214のゲノム結合へのKPT330の影響

6. おわりに

本研究から、核外輸送因子 CRM1 は、核外移行シグナル NES を持つタンパク質の核外輸送を行うだけではなく、核内で新しい機能を有することが明らかとなった (図 13)。すなわち、核内で *HOX* 遺伝子領域に結合して存在し、CRM1 と相互作用する白血病関連因子、すなわち変異型 NPM1 やヌクレオポリン融合タンパク質を *HOX* 領域へとリクルートして、白血病の発症に関わる *HOX* 遺伝子の活性化に寄与していることが明らかとなった。

変異型 NPM1 やヌクレオポリン融合タンパク質の機能阻害に有用と考えられる CRM1 阻害剤については、これまで数多くのもが天然物から抽出され、また化学合成が行われている。特に有名なものとしてレプトマイシン B (Leptomycin B ; LMB) が挙げられる。LMB は放線菌から見出された抗生物質

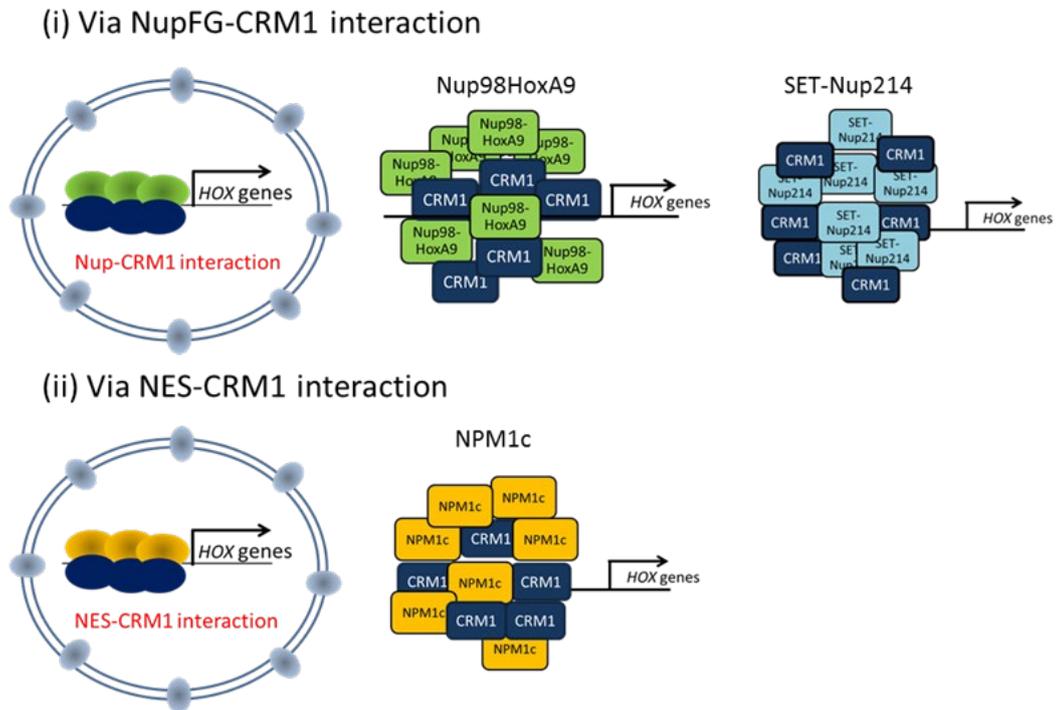


図13 CRM1の新しい機能

(i)ヌクレオポリン融合タンパク質、(ii)変異型NPM1をHOX領域にリクルートして、遺伝子を活性化

で、CRM1に直接結合してCRM1とNESタンパク質の結合を阻害する⁶⁾。白血病細胞以外の多くのがん細胞でもCRM1の高発現が見られ、またCRM1は核内で働くがん抑制因子(p53, BRCAなど)の核外への移行を促し、それらの機能を抑制することから、CRM1阻害剤であるLMBの抗がん剤としての応用が期待された。実際にLMBには強い抗がん作用が認められ臨床試験が行われたが、強い副作用があり認可には至らなかった。近年、開発された非天然の阻害剤KPT330(selinexor)は、LMBより毒性が低く抑えられており、再発・難治性の多発性骨髄腫などを対象にFDAから承認されている。しかしながら、依然として副作用の問題があるため、我々は、現行のCRM1阻害剤の問題点を克服すべく新しいCRM1阻害剤の開発に取り組んでいる。

謝辞

本研究遂行にあたり貴重なご援助を賜りました公益財団法人篷庵社ならびに関係者の皆様に心より感謝申し上げます。また本研究成果は多くの先生方やラボメンバーの協力により得られたものであり、ここに深く感謝致します。

文献

1. Oka M, Yoneda Y. Importin alpha: functions as a nuclear transport factor and beyond. *Proc Jpn Acad Ser B Phys Biol Sci.* 2018;94(7):259-274. doi: 10.2183/pjab.94.018.
2. Falini B, Brunetti L, Sportoletti P, Martelli MP. NPM1-mutated acute myeloid leukemia: from bench to bedside. *Blood.* 2020 Oct 8;136(15):1707-1721. doi: 10.1182/blood.2019004226.
3. Brunetti L, Gundry MC, Sorcini D, Guzman AG, Huang YH, Ramabadran R, Gionfriddo I, Mezzasoma F, Milano F, Nabet B, Buckley DL, Kornblau SM, Lin CY, Sportoletti P, Martelli MP, Falini B, Goodell MA. Mutant NPM1 Maintains the Leukemic State through HOX Expression. *Cancer Cell.* 2018 Sep 10;34(3):499-512.e9. doi: 10.1016/j.ccell.2018.08.005.
4. Oka M, Mura S, Yamada K, Sangel P, Hirata S, Maehara K, Kawakami K, Tachibana T, Ohkawa Y, Kimura H, Yoneda Y. Chromatin-prebound Crm1 recruits Nup98-HoxA9 fusion to induce aberrant expression of Hox cluster genes. *Elife.* 2016 Jan 7;5:e09540. doi: 10.7554/eLife.09540.
5. Oka M, Mura S, Otani M, Miyamoto Y, Nogami J, Maehara K, Harada A, Tachibana T, Yoneda Y, Ohkawa Y. Chromatin-bound CRM1 recruits SET-Nup214 and NPM1c onto HOX clusters causing aberrant HOX expression in leukemia cells. *Elife.* 2019 Nov 22;8:e46667. doi: 10.7554/eLife.46667.
6. Kudo N, Wolff B, Sekimoto T, Schreiner EP, Yoneda Y, Yanagida M, Horinouchi S, Yoshida M. Leptomycin B inhibition of signal-mediated nuclear export by direct binding to CRM1. *Exp Cell Res.* 1998 Aug 1;242(2):540-7. doi: 10.1006/excr.1998.4136.

シクロファンの面不斉を利用した新規触媒の開発

名城大学薬学部

北垣伸治

アミドの分子変換を基盤とした医薬品シーズの創製

京都薬科大学 薬化学分野 小林祐輔

1. はじめに

多様な医薬品シーズを創出するためには、生物活性化合物の効率的な分子変換や修飾・誘導体化が必要である。これまで、比較的反応性の高いアミノ基、カルボキシル基や水酸基を足掛かりとした修飾反応が主に開発されてきたが、中性のアミドは反応性が乏しいため直接的に化学修飾するのが困難であり、変換する手法も限られているのが現状である。そこで、我々は医薬品・天然物などの小分子によく見られるだけでなく、抗体などのタンパク質を構成する基本構造でもあるアミドやその類縁体であるチオアミドに注目し、それらの新規分子変換法を開発することで新たな医薬品シーズを効率的に創出することを目指し検討を行ったので、その詳細について述べる。

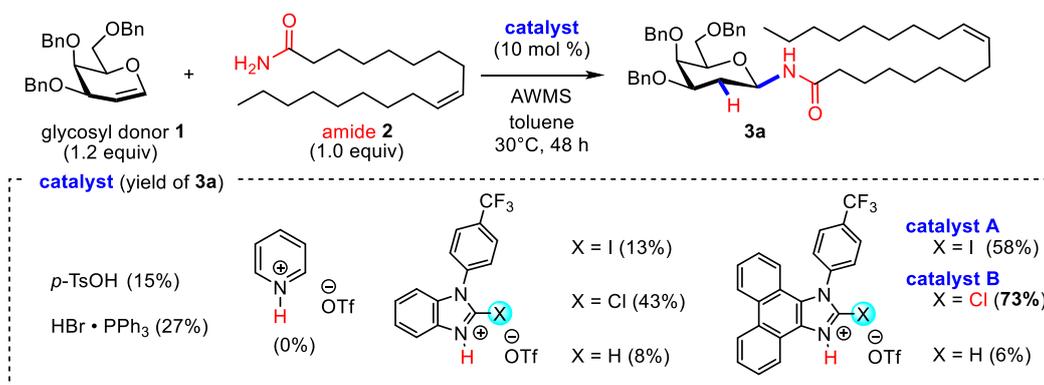
2. アミドの直截的な糖鎖修飾法の開発

糖鎖は多くの生理活性物質や天然物に見られる構造であり、化合物の物性を大きく変化させる。特に医薬品の糖鎖修飾は、生物学的利用能の向上やトランスポーターを介した標的組織への選択的送達などの機能性を有したプロドラッグ化としての応用も期待される。様々なアルコールのO-糖鎖修飾は活発に研究されている一方で、アミドのN-糖鎖修飾法は発展途上である。報告例が少ないだけでなく、糖鎖修飾の多様性も乏しい。その一因としてアミドの求核性が乏しいことが課題として挙げられる。

2-1. アミドの2-デオキシグリコシル化反応の開発¹⁾

2-デオキシ糖はグルコースなどの一般的な糖鎖と比べて酵素に認識されにくいいため、2-デオキシ糖修飾体は生物学的利用能の向上が期待できる²⁾。そこで、トリベンジルガラクトール **1** を糖供与体として用い、オレアミド **2** の2-デオキシグリコシル化反応の検討を行った (Table 1)。

Table 1. Catalyst Screening for 2-deoxyglycosylation of amide **2**



アルコールの2-デオキシグリコシル化反応³⁾で一般に用いられる $\text{BF}_3 \cdot \text{OEt}_2$ や TfOH を用いた場合、糖供与体 **1** の分解がみられ **3a** の収率は 20%程度であった。種々の酸触媒を検討した結果、以前に我々が開発したアゾリウム塩型ブレンステッド酸触媒 **A**⁴⁾を用いると収率が 58%まで向上した。本知見をもとに触媒構造の改変を行ったところ、2位に塩素を有する触媒 **B** を用いた際に目的の糖鎖修飾体 **3a** の収率は 74%まで向上した。アゾール骨格2位の置換基を水素とした場合には反応性の低下が著しくほとんどの原料が回収された。比較実験により、触媒のフェナントレン骨格、及び2位のハロゲン原子が本反応の促進に重要な役割を果たしていることが示唆された。

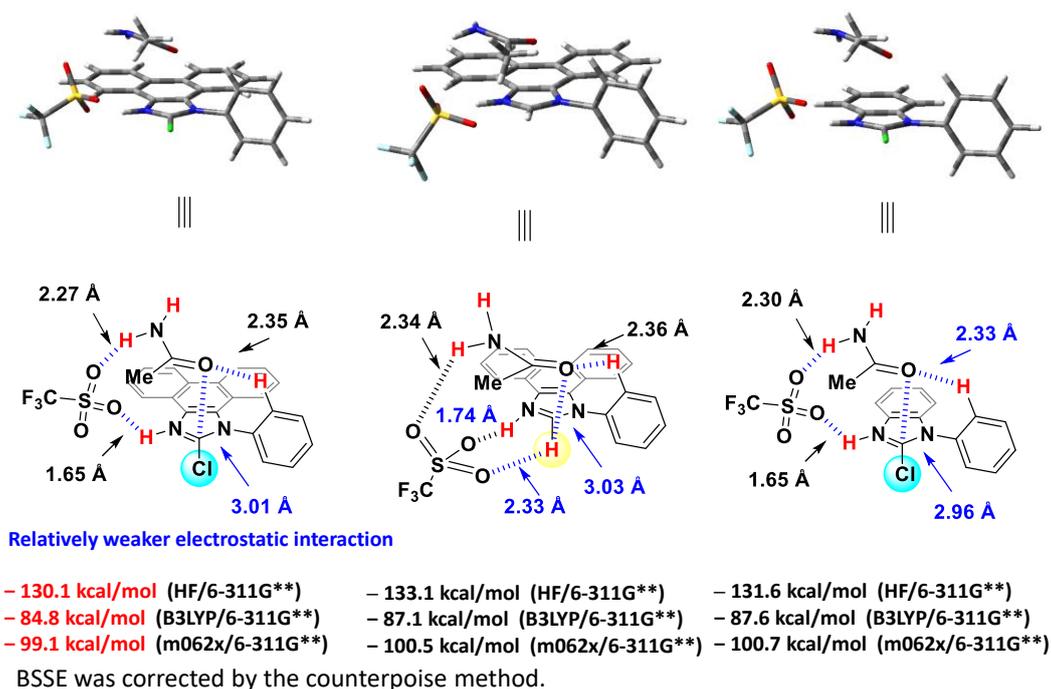


Figure 1. Calculated interaction energy between azolium salt and amide

各触媒とアミドとの相互作用エネルギーを Counterpoise 法⁵⁾を用いて計算した結果、フェナントレン骨格を持つ場合、および2位に塩素原子を有する場合にアミドとの相互作用エネルギーが 2-3 kcal/mol 程度小さくなることがわかった (Figure 1)。触媒 **A** や **B** はアミド存在下においても失活しにくいと、高活性を示したと考察している。

次に、触媒 **B** を用いる 2-デオキシグリコシル化反応の基質適応範囲について検討した (Figure 2)。トリベンジルガラクトール **1** を用いた場合は、いずれも対応する糖鎖修飾体 **3** が完全な β 選択性で良好な収率で得られた。特筆すべきは、ジペプチドやトリペプチドなどのアスパラギン残基にも直接的に糖鎖を導入できることである。また、Galan が開発したグルカール保護体 **4**⁶⁾ を用いることで 2-デオキシグルコースの導入も可能であり、対応する付加体 **5** を中程度から良好な収率で与えた。得られた生成物のアノマー位の立体化学は X 線結晶構造解析、および各種 NMR スペクトルの測定によって決定している。

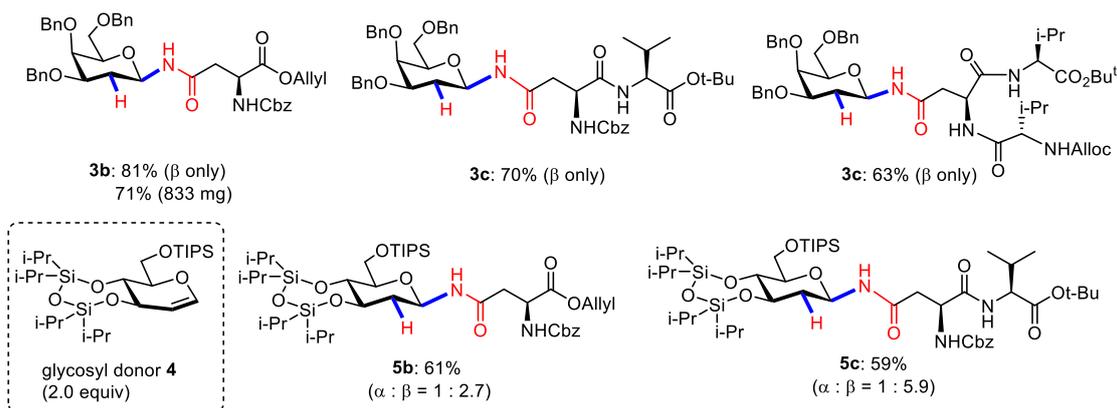
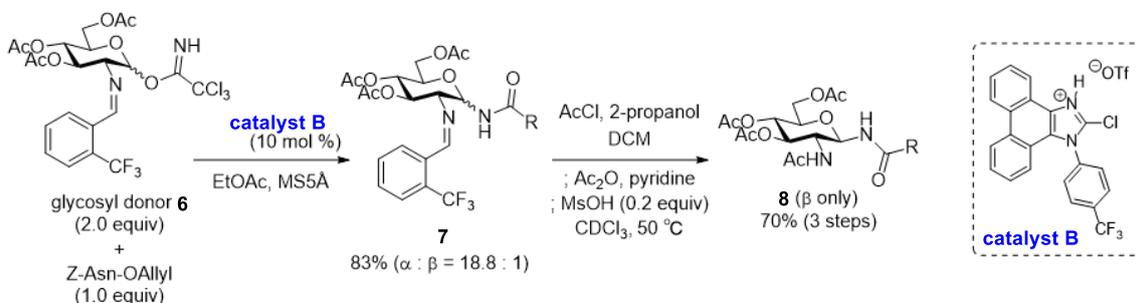


Figure 2. Representative substrate scope for 2-deoxyglycosylation using catalyst **B**

2-2. アミドへの GlcNAc 導入反応の開発⁷⁾

アスパラギン側鎖のアミド基窒素が *N*-アセチルグルコサミン (GlcNAc) に結合した糖ペプチドは生体内にも幅広く見られる糖タンパクの重要な部分構造である。グルコサミン由来の糖供与体はその他の糖供与体に比べて反応性が低いためにグリコシル化反応に利用することが困難である。実際に報告例も限られており、そのいずれにおいても①糖供与体の合成に多工程を要する、②脱離基が入手困難である、③2位アミノ基の保護基が高価で天然型のアセチルアミノ基への変換も容易ではない、といった点が課題として挙げられる⁸⁾。

そこで、今回我々は天然に最も多く存在する *N*- β -GlcNAc-Asn への誘導化を可能にする直截的 *N*-グリコシド合成反応の開発を目指し研究に着手した。触媒および糖供与体について種々検討した結果、前項で用いた触媒 **B** がグルコサミン誘導体 **6** を用いた *N*-グリコシル化反応において、効果的に作用することを見出した (Scheme 1)。本合成法の利点は①糖供与体として 3,4,6-アセチル体を用いるため保護基の変換に起因する工程数の増加を抑えられる点、②脱離基として入手容易なトリクロロアセトイミデートを利用できるようにした点、③2位アミノ基をイミンで保護することで *N*-アセチル体へと容易に変換できる点が挙げられる。



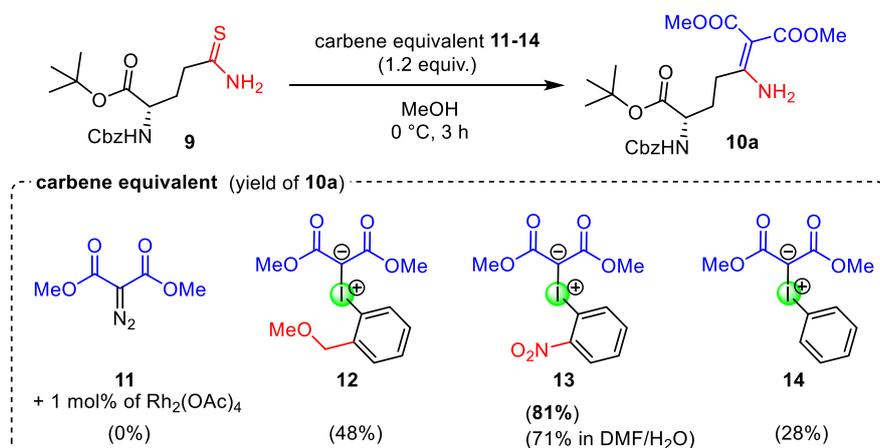
Scheme 1. Introduction of GlcNAc into Asn residue using catalyst **B**

3. チオアミド特異的な分子変換法の開発⁹⁾

ペプチド医薬や核酸医薬は低分子化合物にはない特異かつ強力な生物活性を有するため、近年注目されている。しかし、脂溶性が低く細胞内に移行しにくい、ペプチド結合やリン酸エステル結合が加水分解されやすいなどの問題を有する。これらの問題を解決すべく様々な生物学的等価体（バイオイソスター）が開発されているが、未だ解決すべき課題が残されている。例えば、1) 合成の終盤で直截的にペプチドミメティックを構築する方法論の開発や、2) ヌクレオチドのリン酸エステル結合のミメティックの開発などである。これらの開発が進んでいない最大の理由は、ペプチドや核酸などの高極性化合物を溶解できる水系溶媒で利用できる反応が極めて少ないからである。そこで、今回チオアミドに注目し¹⁰⁾、ペプチドや核酸などの高極性化合物にも適用できる極性溶媒中での反応開発を行った。

まず、チオアミド **9** とカルベン等価体によるエナミノン **10** の合成について検討した (Table 2)。エナミノン構造はアミドのミメティックとして報告があるものの¹¹⁾、その合成はチオアミドとプロモエステル、或いはジアゾエステルを加熱攪拌する必要があり、官能基許容性やエピメリ化などの観点から、ペプチド鎖への適用は難しいのが現状である。実際に、メタノール溶媒中0度の条件ではジアゾエステル **11** との反応はまったく進行しなかった。そこで、我々はカルベン等価体としてヨードニウムイリドに注目した。ヨードニウムイリドが有するソフトなルイス酸性（ハロゲン結合供与能）¹²⁾は水中でも利用可能であるため、ソフトなルイス塩基性を有するチオアミドとの化学選択的なカップリング反応が可能であると考えた。種々のヨードニウムイリド¹³⁾を合成し反応性を検討した結果、ニトロ基を有するヨードニウムイリド **13** を用いた場合に、チオアミドとの脱硫を伴う反応がメタノール溶媒中で良好な収率で進行し、エナミノン **10a** が81%収率で得られた。含水溶媒中 (DMF/H₂O) で大きく収率を損なうことなく反応できる点は特筆すべき点である。

Table 2. Coupling reaction of thioamide with carben equivalent in polar solvent



反応は様々なチオアミドとヨードニウムイリドとのカップリングに適用可能であった (Figure 3)。ケトエステルから合成したヨードニウムイリドを用いた場合には、脱硫を伴わずチアゾール環 **11**

が得られた。医薬品、ステロイド、ペプチド、糖鎖など様々な官能基共存下でも反応が良好に進行した。

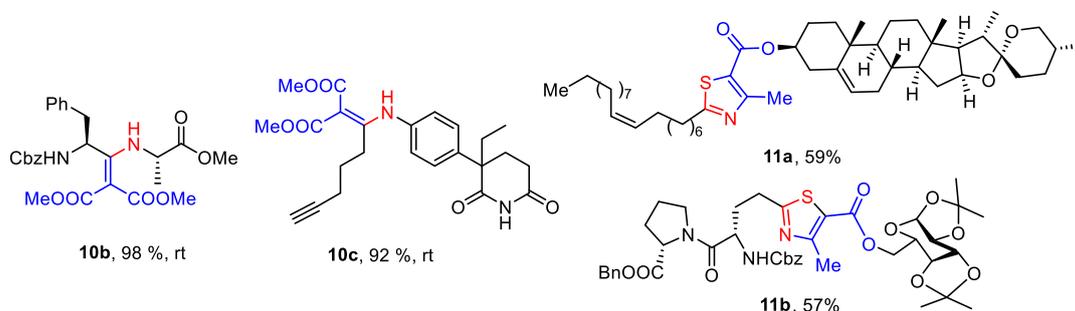
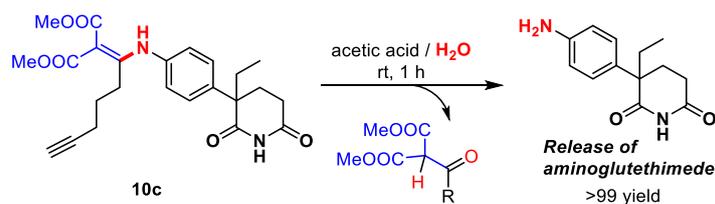


Figure 3. Representative substrate scope for coupling reaction of thioamide with iodonium ylides

エナミノンは酸性条件下で加水分解されるため、アミン含有医薬品のプロドラッグ化が可能である。例えば、エナミノン **10c** は酢酸/水で処理するとアロマトラーゼ阻害剤であるアミノグルテチミドが定量的に放出される (Scheme 2)。さらなる応用について現在検討中である。



Scheme 2. Release of aminoglutethimide (aromatase inhibitor)

4. ペルフルオロアルキルアミド挿入反応の開発

合成終盤での化合物へのアミノ基導入反応は、天然物合成や医薬品の誘導体化に利用できるため、近年活発に研究されている分野である。特に、金属ナイトレノイドを用いるC-H挿入反応が最も多く報告されている反応の一つであり、これまでに多くのナイトレン前駆体が開発されている。ナイトレン前駆体として用いられるイミノヨージナンはトシル基などのスルホニル基に限定的であり、保護基の脱着やその後の誘導化などに課題が残る。一方で、アシル基を有するイミノヨージナン **15** はホフマン転位などの分解が起こりやすく不安定なため、これまで単離構造決定されることがなかった (Figure 4)。これまでに我々はオルト位にメトキシメチル基を導入することで *N*-トリフルオロアセチルイミノヨージナン **16** を単離・構造決定することに初めて成功した¹⁴⁾。また、光照射すると励起されナイトレン等価体として機能することを見出している¹⁵⁾。

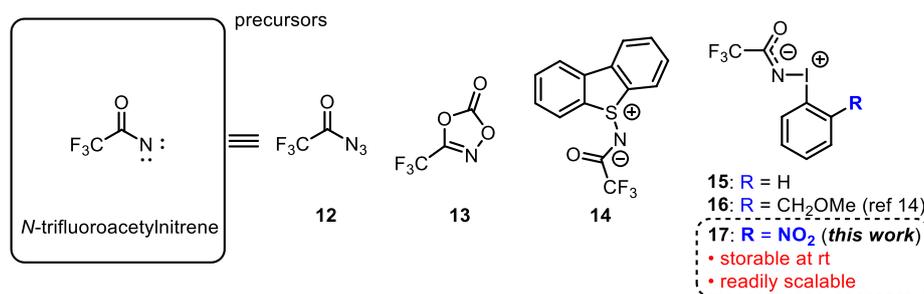


Figure 4. Reported *N*-trifluoroacetyl nitrene precursors

4-1. 試薬の改良およびペルフルオロアルキル基を有するオキサゾール合成法の開発¹⁶⁾

N-アシルイミノヨージナン **16** は低温では安定だが、室温で放置すると分解してしまう。さらに本化合物の合成は 33% 収率と低収率であるため、安定性や合成法にさらな改善の余地があった。そこで、我々は芳香環上オルト位の置換基について検討し、ニトロ基を有する *N*-アシルイミノヨージナン **17** は安定性が良好かつ合成も容易であることを見出した。すなわち、トリフルオロアセトアミドをピリジン・エーテル溶液中で超原子価ヨウ素試薬 **18** と反応させることで得られた (Figure 5)。グラムスケールの合成が高収率で進行し、室温で 1 ヶ月以上保存可能な黄色の固体であった。

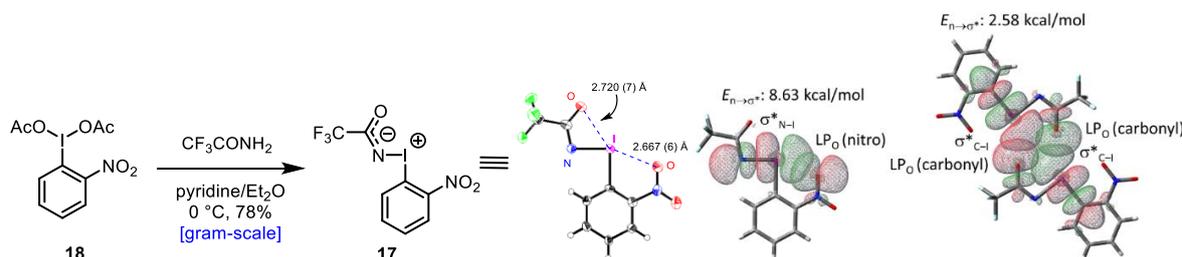


Figure 5. Synthesis of *ortho*-nitro-substituted iminoiodinane **17** and its ORTEP structure and NBO analysis

X 線結晶構造解析によりその立体構造を明らかにした。ヨウ素と 2 つの酸素との原子間の距離 (2.667 Å, 2.720 Å) がそれぞれの原子のファンデルワールス半径の和 (1.98 + 1.52 = 3.50 Å) より小さかったことから、ヨウ素と 2 つの酸素原子との間に配位性の相互作用があることが示唆された。また、*N*-アシルイミノヨージナン **17** の NBO 解析を行ったところ、分子内および分子間のハロゲン結合相互作用があることがわかった。一方で、ヨージナン **16** では分子間ハロゲン結合が見られなかった。これらの分子間相互作用の違いが安定性の差に寄与しているものと考えている。

次に、トリフルオロメチル (CF₃) 基を有するオキサゾールの合成への応用を試みた。近年、医薬・農薬の分野では化合物へのフッ素原子の導入が盛んに行われており、中でもトリフルオロメチル基は含フッ素置換基として注目を集めている。実際に sp² 炭素に結合した CF₃ 基を有するシタグリプチン、セレコキシブなどは世界医薬品売上高上位に位置する医薬品であり、CF₃ 基の低分子医薬品における重要性を示す好例である。我々は、オキサゾールと酸化度が同じアルキン

に注目し、*N*-トリフルオロアセチルナイトレンとの[3+2]型の反応が進行すれば、CF₃基を有するオキサゾールが得られると考えた。原料であるアルキンは、セイファース・ギルバート反応や菌頭反応を利用することで様々な官能基や置換基を有するものが入手容易である。

アルキン **19a** とイミノヨージナンとの反応を種々検討した結果、365 nm の UV 照射下で望みのオキサゾールが得られることがわかった (Figure 6)。また、今回開発したヨージナン **17** を用いた方が以前に開発したヨージナン **16** よりも収率が向上した。反応は電子求引基、電子供与基を有する芳香族のアルキンだけでなく、脂肪族アルキンにも適用可能であった。内部アルキンも適用可能であり、対応するオキサゾール **20e** が中程度の収率で得られた。

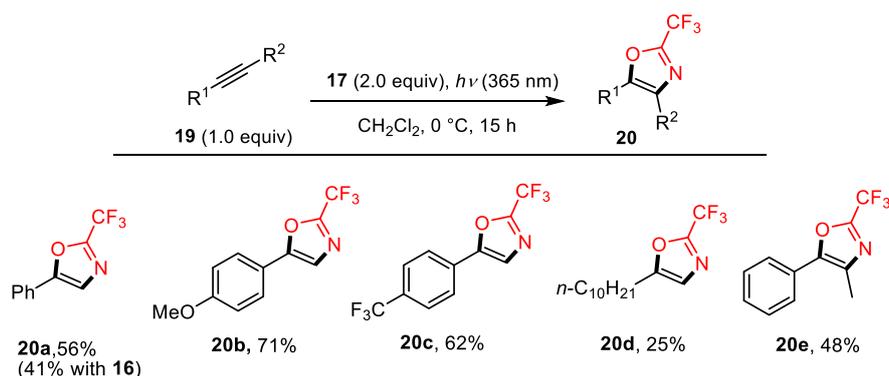
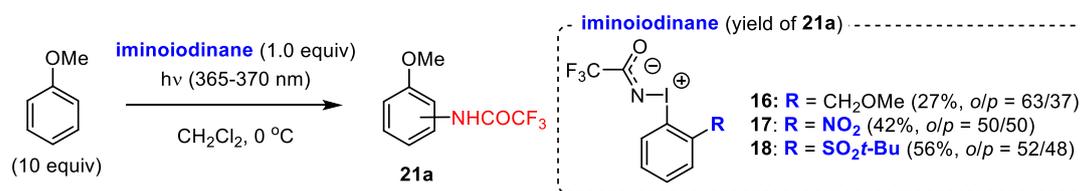


Figure 6. [3+2]-type cycloaddition of alkynes with iminoiodinane under photo-irradiation

4-2. 芳香族化合物へのペルフルオロアルキルアミド挿入反応の開発¹⁷⁾

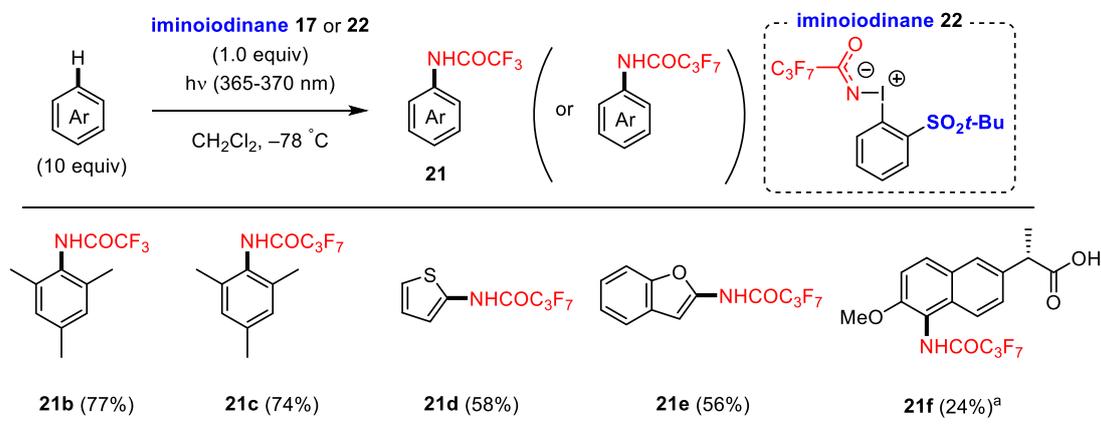
ペルフルオロアシルアミド構造を有する種々の芳香族化合物には、多様な生物活性が報告されている¹⁸⁾。その合成法としてはアミノ基の *N*-アシル化反応が汎用されるが、基質の入手容易性に応じて代替法が必要となる。そこで、今回著者らは芳香環 C-H アミノ化反応によるさまざまなペルフルオロアシルアミド基の導入法の開発を目指して研究に着手した。



Scheme 3. C-H trifluoroacetamidation using iminoiodinane

まず、アニソールを基質としてこれまでに合成したイミノヨージナン **16**, **17** の反応性を検討した (Scheme 3)。Rh₂(OAc)₄ などの遷移金属触媒の添加では反応は進行しなかったが、紫外光の照射により望みのアミノ化物 **21a** がそれぞれ 27%、42% 収率で得られた。さらなる試薬の改良を行ったところ、オルト位に -SO₂*t*-Bu 基を有するイミノヨージナン **18** で収率が 56% まで向上するこ

とを見出した。最終的に反応温度を $-78\text{ }^{\circ}\text{C}$ まで下げることで収率が61%まで向上したため、以降の検討は本条件にて行った。



^a 1.0 equiv of substrate and 1.2 equiv of iodinane **22** was used.

Figure 7. Representative substrate scope for C–H perfluoroacylamidation of (hetero)aromatic compounds

代表的な基質適用範囲を Figure 7 示した。一般的に芳香環上の C–H 結合とベンジル位 C–H 結合は反応が競合しうるが、メシチレンを用いた場合にも芳香環上での反応生成物 **21b** が良好な収率で得られた。また、*n*-C₃F₇基を有するイミノヨージナン **22** を新たに合成して検討を行ったところ、メシチレンとの反応では対応する付加体 **21c** が 74%収率で得られた。ベンゾフラン、チオフェンといった複素芳香環を用いた場合にも中程度の収率で目的物 **21d**, **21e** が得られた。さらに、合成終盤での官能基化への応用として、非ステロイド性抗炎症薬ナプロキセンに対して小過剰量の **22** を作用させたところ、医薬品誘導体 **21f** が得られた。収率に課題は残るものの、C–H 結合を合成の最終段階でさまざまなペルフルオロアルキルアミドへと変換できる本法は化合物ライブラリの迅速な構築など創薬研究において有用な手法となり得ると考えている。

5. おわりに

以上のようにアミド、チオアミド、ペルフルオロアルキルアミドを用いた新しい分子変換法を開発することができた。また、その過程において新規の触媒や試薬を創製することができた。糖鎖の導入、含水溶媒中での共役反応、後期修飾反応はいずれも医薬品シーズの創出に重要であり、開発した触媒や試薬が創薬研究を加速してくれるものと期待している。それぞれの触媒や試薬のさらなる改良や異なる反応への応用¹⁹⁾について研究を展開したいと考えている。

謝辞

本研究は京都大学大学院薬学研究科 薬品分子化学分野（2019年度）および京都薬科大学薬化学分野（2020年度）において行われたものです。ご指導・ご助言いただきました京都大学大学院薬学研究科教授 竹本佳司先生、京都薬科大学教授 古田巧先生に心より御礼申し上げます。共同研究者の京都大学大学院薬学研究科 南條毅先生、京都薬科大学 浜田翔平先生をはじめ研究に携わってくれたすべての大学院生・学生に感謝いたします。特に、プロジェクトの立ち上げに多大な貢献をしてくれた斉藤真人博士（現：米国スクリプス研究所博士研究員）、中辻雄哉博士（現：第一三共株式会社）、正門宗大修士（現：塩野義製薬株式会社）、木村智弘修士（現：旭化成株式会社）に厚く御礼を申し上げます。

本助成によって反応の開発のみならず、開発した触媒や試薬の計算化学による解析を飛躍的に推進することができました。ご支援を賜りました公益財団法人 篷庵社に深謝いたします。

参考文献

- 1) Y. Nakatsuji, Y. Kobayashi, Y. Takemoto, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2019**, *58*, 14115–14119.
- 2) (a) P. Kahn, C. Guan, T. Cui, A. L. Tarentino, T. H. Plummer Jr., P. V. Roey, *J. Biol. Chem.* **1995**, *270*, 29493–29497. (b) J. Q. Fan, Y. C. Lee, *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 27058–27064. (c) L. Laupichler, C. E. Sowa, J. Thiem, *Bioorg. Med. Chem.* **1994**, *2*, 1281–1294.
- 3) C. S. Bennet, M. C. Galan, *Chem. Rev.* **2018**, *118*, 7931–7985.
- 4) (a) Y. Kobayashi, Y. Nakatsuji, S. Li, S. Tsuzuki, Y. Takemoto, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 3646–3450. (b) S. Li, Y. Kobayashi, Y. Takemoto, *Chem. Pharm. Bull.* **2018**, *66*, 768–770.
- 5) S. F. Boys, F. Bernardi, *Mol. Phys.*, **1970**, *19*, 553–566.
- 6) E. I. Balmont, D. Benito-Alifonso, D. M. Coe, R. W. Alder, E. M. McGarrigle, M. C. Galan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 8190–8194.
- 7) *Manuscript in preparation*
- 8) (a) H. Tanaka, Y. Iwata, D. Takahashi, M. Adachi, T. Takahashi, *J. Am. Chem. Soc.* **2005**, *127*, 1630–1631. (b) Y. Zhang, S. Knapp, *Tetrahedron* **2018**, *74*, 2891–2903. (c) X. Wang, P. Wang, D. Li, M. Li, *Org. Lett.* **2019**, *21*, 2402–2407.
- 9) M. Saito, Y. Kobayashi, Y. Takemoto, *Chem. Eur. J.* **2019**, *25*, 10314–10318.
- 10) M. Saito, S. Murakami, T. Nanjo, Y. Kobayashi, Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.* **2020**, *142*, 8130–8135.
- 11) M. L. Elliott, K. Thomas, S. Kennedy, N. D. Koduri, R. S. Hussaini, R. J. Sheaff, *Chem. Biol. Drug Des.* **2015**, *86*, 322–332.

- 12) F. Heinen, E. Engelage, A. Dreger, R. Weiss, S. M. Huber, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2018**, *57*, 3830–3833.
- 13) M. Saito, Y. Kobayashi, S. Tsuzuki, Y. Takemoto, *Y. Angew. Chem. Int. Ed.*, **2017**, *56*, 7653–7657.
- 14) Y. Kobayashi, S. Masakado, Y. Takemoto, *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2018**, *57*, 693–697.
- 15) S. Masakado, Y. Kobayashi, Y. Takemoto, *Heterocycles*, **2020**, *101*, 453–460.
- 16) Y. Kobayashi, S. Masakado, T. Murai, S. Hamada, T. Furuta, Y. Takemoto, *Org. Biomol. Chem.* *in revision*.
- 17) *Manuscript in preparation*
- 18) (a) K. L. Kees, T. M. Smith, M. L. McCaleb, D. H. Prozialeck, R. S. Cheeseman, T. E. Christos, W. C. Patt, K. E. Steiner, *J. Med. Chem.* **1992**, *35*, 944–953. (b) S. Vangapandu, M. Jain, R. Jain, S. Kaur, P. P. Singh, *Bioorg. Med. Chem.* **2004**, *12*, 2501–2508. (c) E. C. Truong, P. W. Phuan, A. L. Reggi, L. Ferrera, L. J. V. Galiotta, S. E. Levy, A. C. Moises, O. Cil, E. Diez-Cecilia, S. Lee, A. S. Verkman, M. O. Anderson, *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 4626–4635. (d) W. Heal, M. J. Thompson, R. Mutter, H. Cope, J. C. Louth, B. Chen, *J. Med. Chem.* **2007**, *50*, 1347–1353.
- 19) Y. Nakatsuji, Y. Kobayashi, S. Masuda, Y. Takemoto, *Chem. Eur. J.*, **2021**, *27*, 2633–2637.

環骨格リモデリング戦略に基づく多環式ヘテロ環の創製

神戸薬科大学 上田昌史

1. はじめに

今日の医薬品市場は、抗体医薬などの高分子医薬品が大きな位置を占めている。抗体医薬は、標的となる分子に対して特異的に結合するため、副作用の少ない効果的な治療薬であるだけでなく、開発期間が低分子医薬品に比べてはるかに短いため、今後も医薬品市場の主力となり、医療に大きく貢献することが期待される。しかし、抗体医薬は複雑な構造を有するため生産コストが高いだけでなく、従来のタンパク医薬品に比べ投与量のはるかに多いことから、治療費用が高額になり、我が国の医療経済の近い将来のひっ迫が危惧される。一方、低コストで大量生産が可能な低分子医薬品に目を向けると、近年ブロックバスターと称する革新的低分子医薬品の創出が滞っている。これは、既存の化合物ライブラリーに依存したスクリーニングによる探索研究が大きな要因であると考えられる。すなわち、多種多様なライブラリーを用いたとしても限定的であることは否めない。そのため、これまでにない新しい様式のファーマコフォアとなり得るヘテロ環化合物の創製は、医薬品開発の視野を広げ、新しい作用機序を有する革新的医薬品の開発に繋がると考えられる。

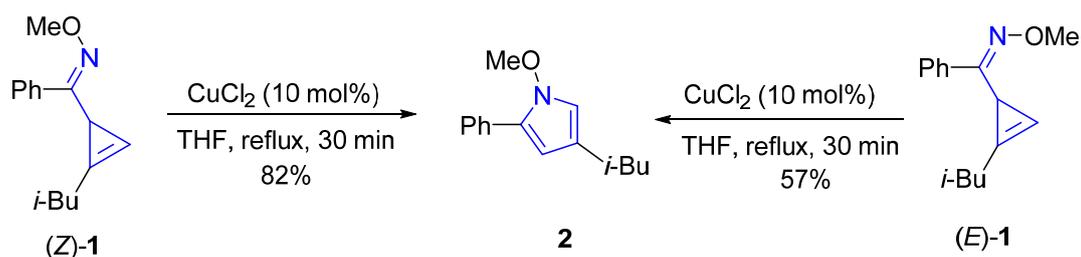
生物活性化合物の核となる含窒素ヘテロ環骨格は、生合成や代謝過程などの生命活動の維持に重要な役割を果たしているだけでなく、現在市販されている低分子医薬品の半数以上に部分骨格として含まれている。¹⁾ また、含窒素ヘテロ環は、医薬品のファーマコフォアとして活性の中心となることに加えて、官能基を適切な位置に配置するテンプレートとしての役割も担う。したがって、含窒素ヘテロ環化合物を簡便かつ迅速に供給する新たな方法論の開発は、効率的に創薬研究を行うための重要な課題である。

最近、我々は、連続したヘテロ原子をもつ官能基の新しい化学の開拓と展開を目的とした研究に注力している。²⁾ 一般にヒドラジンやアルコキシアミンなどの連続するヘテロ原子をもつ官能基は、特徴的な反応性や性質を有することが知られている。そこで、本研究では、連続ヘテロ原子の特異な反応性の代表例である高い求核性を利用して、環化、環拡大や環縮小反応を進行させることでヘテロ環骨格の新規合成法を確立したので以下に述べる。

2-1. N-アルコシキイミンをもつシクロプロペンの環化異性化によるピロール合成³⁾

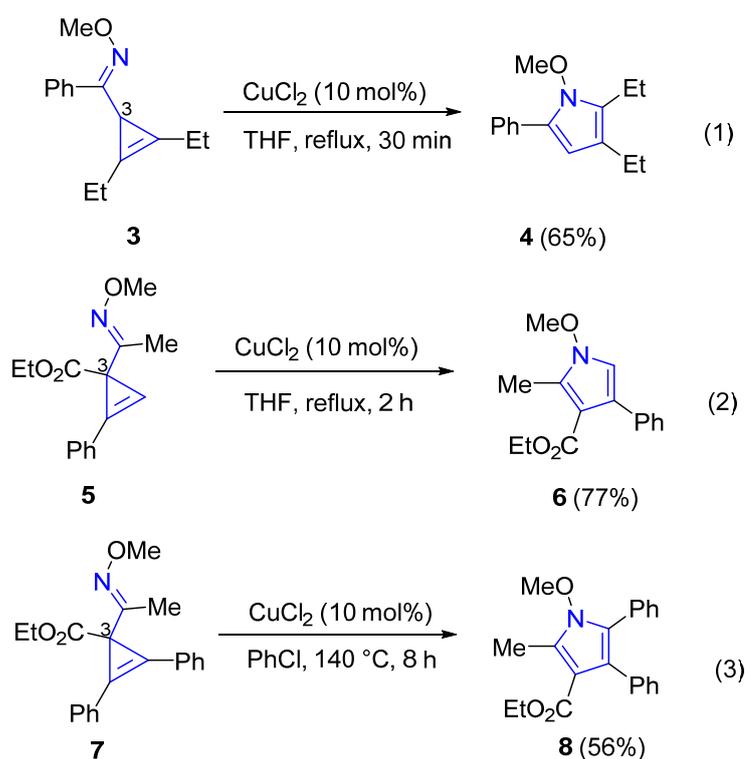
シクロプロペン類は、不飽和結合をもつ最も小さい脂環式化合物であり、二重結合と大きな環歪みを併せ持つため、非常に反応性に富んでいることから、天然有機化合物、医薬品および生物活性化合物合成のための合成素子として利用されている。特に遷移金属触媒を利用したシクロプロペンの環化異性化反応は、原子効率の高い反応として注目され、炭素環式化合物の合成のみでなく、様々なヘテロ原子を組み込んだヘテロ環化合物の合成として開発研究が活発に行われている。⁴⁾ しかし、シクロプロペンの環化異性化によるピロール合成に關す

る報告例は少なく、しかも収率や置換基の位置選択性が低いため、より効率的なピロール合成法の確立が望まれていた。そこで、多置換ピロール類の新規合成法の開発を目的として、*N*-アルコシキイミンを有するシクロプロペン類の遷移金属触媒による環化異性化反応を検討した。シクロプロペン(**Z**)-**1**をTHF還流条件下、触媒として塩化銅(II)で処理すると、期待した環化異性化反応が位置選択的に進行し、目的のピロール**2**が82%の収率で得られた(Scheme 1)。また、イミン部分の幾何異性が本反応の大きく影響することが明らかとなった。すなわち、(*E*)-**1**を基質として同条件で反応を行うと、原料は速やかに消失するものの、**2**の収率は57%まで低下した。



Scheme 1. Copper-catalyzed cycloisomerization of cyclopropenylimine.

次に本反応の基質一般性を検討し、多置換ピロールの合成へ展開した。まず、三置換のシクロプロペンを基質として環化異性化反応を検討した。1,2位にそれぞれエチル基をもつ3-イミノシクロプロペン**3**を用いて反応を行ったところ、目的の四置換ピロール**4**が65%の収率で得られた(Scheme 2-1)。また、3位にエステル、1位にフェニル基をもつ三置換シクロプロペン**5**の環化異性化反応では、四置換ピロール**6**が77%の収率で生成した(Scheme 2-2)。さらに、すべての位置に置換基をもつ3-イミノシクロプロペン**7**の反応を検討した(Scheme 2-3)。その結果、反応の進行には高温条件と長時間を要する

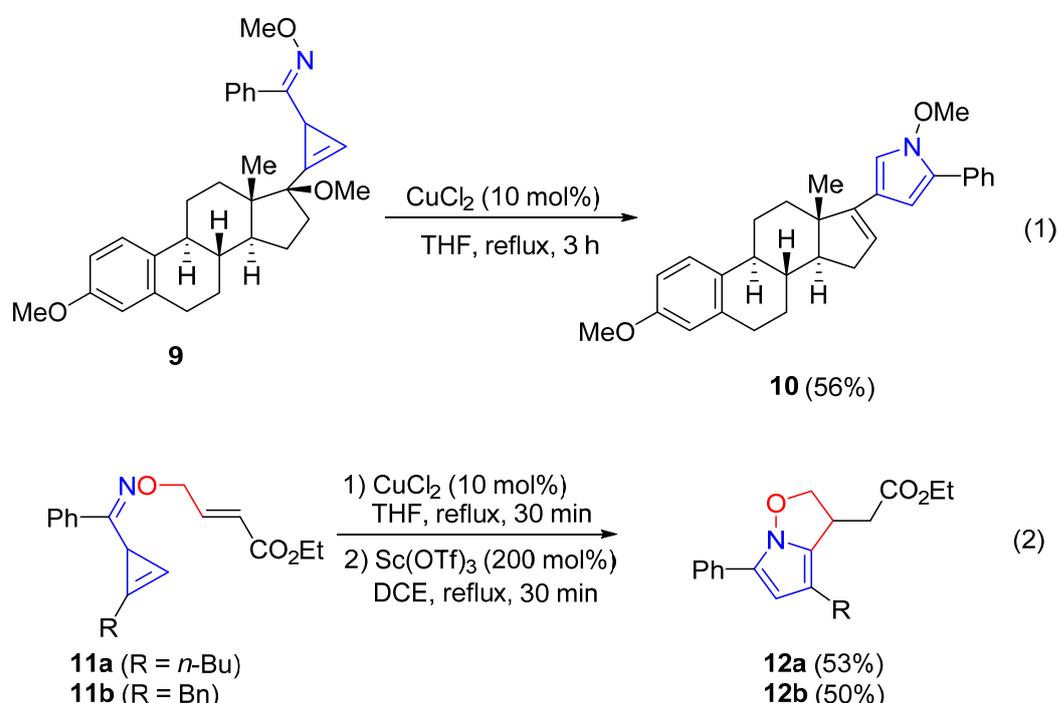


Scheme 2. Synthesis of multisubstituted pyrroles.

ものの、期待通り環化異性化反応が進行し、全置換ピロールが収率良く得られた。以上のように、本反応は様々な置換様式をもつ多置換ピロールの合成が可能であることが明らかとなった。そこで次に、本反応の有用性を確かめるために、より複雑な官能基を有するシクロプロ

ロペン誘導体の環化異性化を検討した。まず、エチニルエストラジオールから誘導したステロイド骨格を有するイミノシクロプロペン **9** の銅触媒による反応を検討した (Scheme 3-1)。その結果、環化異性化とメトキシ基の脱離も同時に進行して生成したピロール **10** が 56% の収率で得られた。さらに、酸素原子上に共役エステルを有するイミノシクロプロペン **11a,b** を基質として塩化銅による環化異性化を行い、形成したピロール環と共役エステル部分との分子内共役付加反応を検討した。様々な反応条件を検討したところ、Sc(OTf)₃ を用いた場合に効率的に閉環反応が進行し、これまで合成例がほとんどなかったピロロ[1,2-*b*]イソキサゾール骨格を構築できることが分かった (Scheme 3-2)。

以上のように、*N*-アルコシキイミンをもつシクロプロペンの環化異性化反応による多置換ピロール類の新規合成法の開発に成功した。本反応は、原料に存在するすべての原子が生成物に含まれることから、廃棄物がほとんど生成しない原子効率の高い反応である。

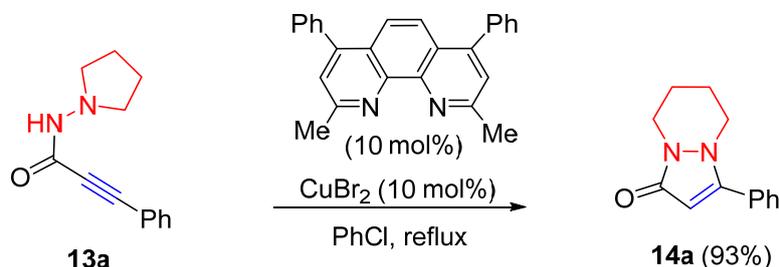


Scheme 3. Cycloisomerization–elimination reaction and synthesis of pyrrolo[1,2-*b*]isoxazoles.

2-2. N-N 結合の特性を利用したヘテロ環の合成

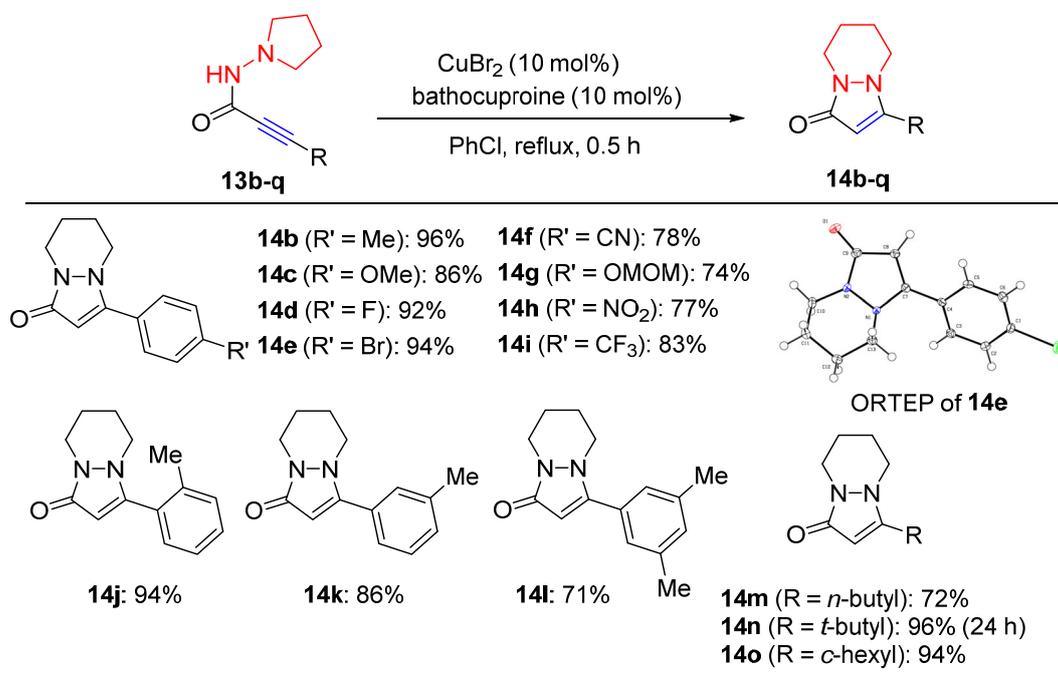
アルキンをπ-ルイス酸性の遷移金属触媒により活性化した後、閉環–転位が連続するヘテロ環合成法はヘテロ環を構築すると同時に置換基を所望の位置に導入できるため、多置換のヘテロ環を構築する方法として非常に有用な反応である。そのため、これまで環化反応後に1,3–転位あるいは1,2–転位を進行させる様々なヘテロ環合成法が開発されてきた。⁵⁾しかし、炭素–窒素結合の形成を伴う1,2–転位を連続反応に組み込んだ反応については報告例がない。そこで、ピロリジン環を有するアルキニルヒドラジドの連続反応によるN-N縮環型ヘテロ環の合成を検討した (Scheme 4)。⁶⁾初めに、フェニル基をもつプロピオールアミド **13a** を基質として最適反応条件の検討を行った。様々な触媒やリガンドを検討した結果、クロロベ

ンゼン還流中、触媒として臭化銅 (10 mol%)、リガンドとしてバソクプロイン (10 mol%) を用いると、期待した閉環一環拡大反応が最も効率的に進行し、93%の収率で、ピラゾロピリダジンが **14a** が得られることが明らかとなった。



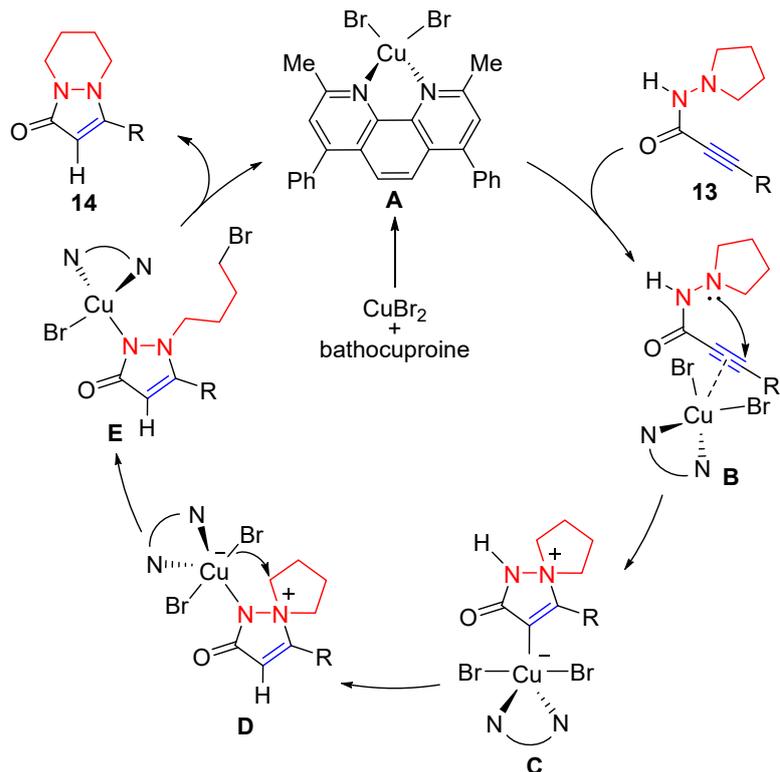
Scheme 4. Copper-catalyzed sequential cyclization/migration of alkynylhydrazide.

次に、本反応におけるアルキン部位の置換基効果について検討した (Scheme 5)。まず、ベンゼン環のパラ位に様々な置換基をもつ基質で検討したところ、置換基の電子的性質にはほぼ影響を受けず、いずれの場合も良好な収率でピラゾロピリダジン**14b-i**が得られた。なお、臭素原子をもつ**14e**の構造は、X線結晶構造解析により決定した。次に、ベンゼン環のオルト位およびメタ位にメチル基をもつ基質の反応を検討した。その結果、良好な収率で目的のピラゾロピリダジン**14j-i**が得られた。さらに、芳香環以外の置換基として、アルキル基を検討した。*tert*-ブチル基のような立体障害の大きい置換基をもつ基質**13n**では、反応完結には長時間を要したが、脂肪族の置換基においても目的の閉環一環拡大反応が効率よく進行することが判明した。



Scheme 5. Substrate scope of copper-catalyzed sequential reaction.

種々の対照実験の結果に基づき、推定反応機構を Scheme 6 に示した。本反応はまず、銅触媒とバソクプロインの複合体 **A** によりプロピオールアミド **13** のアルキン部位が活性化されることで閉環反応が進行し、スピロ中間体 **C** が形成される。続いて、アミドプロトンの 1,3-転位により **D** が生成し、銅原子上の臭化物イオンによる求核攻撃が進行することでピロリジン環が開環する。最後に、**E** の分子内求核置換反応により閉環し、触媒 **A** の再生を伴い、ピラゾロピリダジン **14** が生成すると考えている。本反応は炭素-窒素結合および炭素-銅結合の形成から

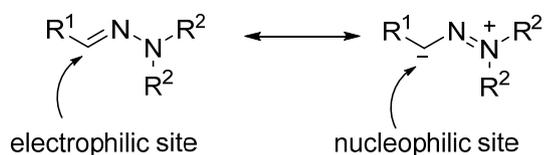


Scheme 6. Proposed mechanism.

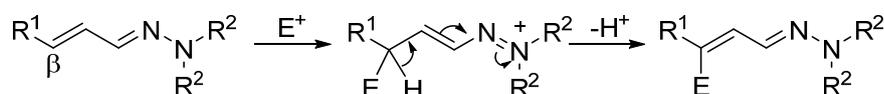
始まり、5ヶ所の結合形成と4ヶ所の結合切断が一挙に進行し、多様な結合の組み換えが起こるにも関わらず、原子効率が100%の反応である。また、本研究をアルキンを有するヒドラゾンのハロ環化へ展開し、多様な構造に変換可能な1,4,5-置換ジブロモピラゾール合成にも成功している。⁷⁾

次に、ヒドラゾンの求核性を利用したピラゾール骨格の新規合成法の開発を検討した。一般にヒドラゾンはカルボニル基と同様、イミン炭素が求電子性をもつため、求核剤を付加させることができる (Scheme 7(a))。一方、アミノ基側の窒素原子からの非共有電子対の押し出しによりイミン炭素が求核性を有することも知られており、塩化アシルのような求電子剤を導入することも可能である。

(a) ambiphilic nature of hydrazones

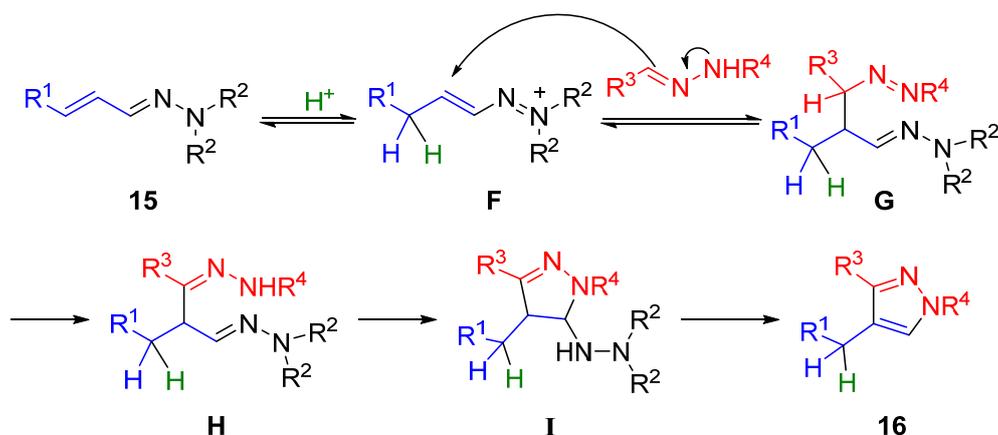


(b) electrophilic substitution of α,β -unsaturated hydrazones



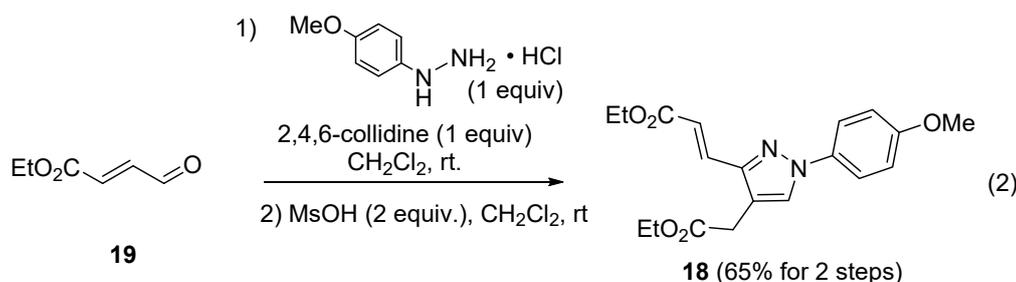
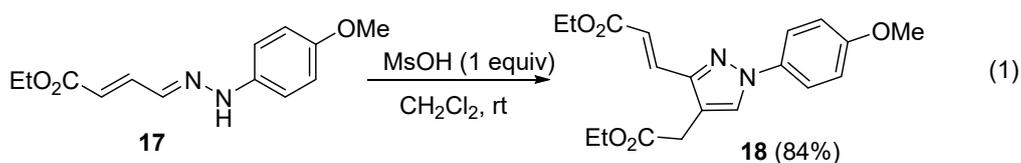
Scheme 7. Nucleophilic reactivity of hydrazones

このようにヒドラゾンのイミン炭素は求電子性と求核性の両方の性質を有するため、有用な合成素子である。⁹⁾ また、二重結合に共役した α,β -不飽和ヒドラゾンも同様に β 位に求電子剤を導入可能であるが、これまでに報告された研究では、求電子剤導入後に生成する1,2-ジアザ-1,3-ジエンの脱プロトン化が進行する求電子置換反応に限られていた (Scheme 7(b))。そこで、1,2-ジアザ-1,3-ジエンの合成的有用性を示すために、1,2-ジアザ-1,3-ジエンへの求核付加反応を計画した (Scheme 8)。すなわち、共役ヒドラゾン **15** の β 位がプロトン化されることによって生成するアザジエン **F** を求電子剤として利用し、もう一分子のヒドラゾンを求核剤として反応させると β -ジイミン **H** が生成する。さらに、閉環反応とヒドラジンの脱離を伴う芳香族化が進行すれば、ピラゾール環が構築できると考えた。



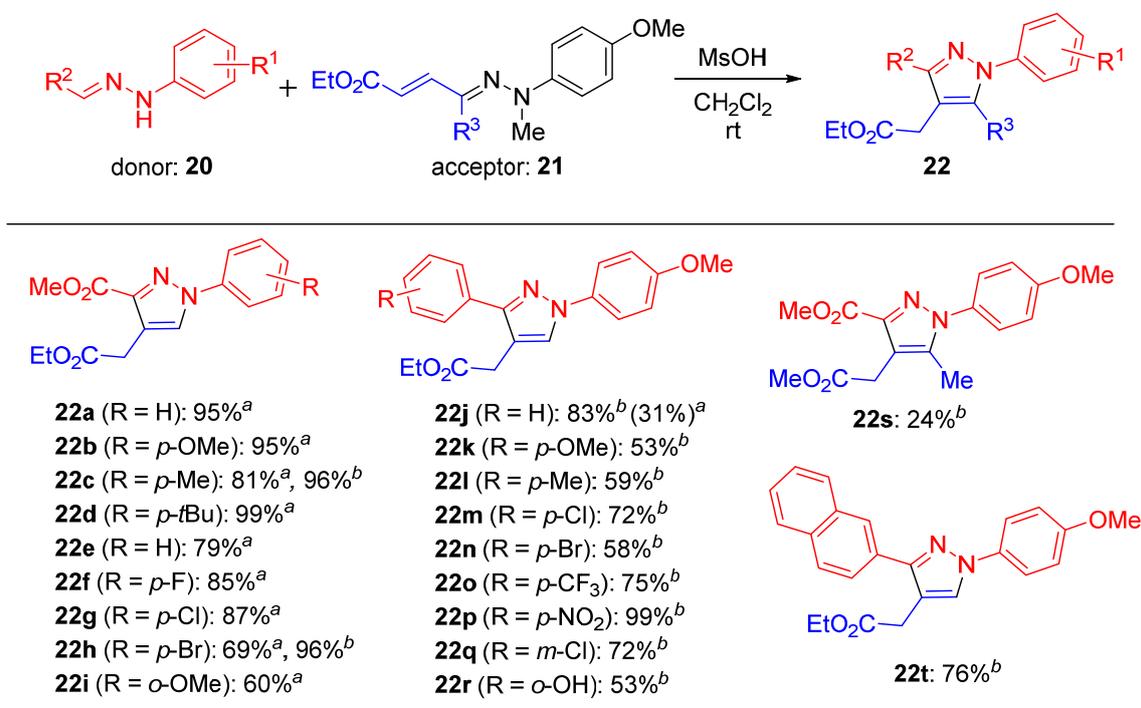
Scheme 8. Nucleophilic attack of hydrazone to 1,2-diaza-1,3-diene.

まず、 β 位にエステルをもち、窒素原子上に *p*-メトキシフェニル基をもつ共役ヒドラゾン **17** を基質として、様々な酸との反応を検討した結果、メタンスルホン酸を用いた場合に、ヒドラゾン **17** の二分子による自己縮合が効率よく進行し、目的のピラゾール **18** が高収率で得られることを見出した (Scheme 9-1)。さらに、本反応は、共役アルデヒドからのヒドラゾン合成を経るワンポット反応にも適用できることを明らかにした (Scheme 9-2)。



Scheme 9. Self-condensation reaction of α,β -unsaturated hydrazone.

さらに、2種類の異なるヒドラゾンを用いた交差縮合反応においても様々な置換様式のピラゾール誘導体が合成できることを明らかにした (Scheme 10)。ヒドラゾン供与体としてグルオキシル酸エステル誘導体**20**と、ヒドラゾン受容体として共役ヒドラゾン**21**をメタンスルホン酸で処理すると、95%の収率でピラゾール**22a**が得られた。また、パラ位に電子供与基やハロゲンをもつ基質、オルト位に電子供与基をもつ基質のいずれの場合も効率よく反応が進行し、**22b-h**が得られた。また、R³としてメチル基を有するケトヒドラゾンを基質として用いた場合は、目的の反応は進行しピラゾール**22s**は得られるものの、低収率にとどまった。次に、R²としてエステルの代わりに芳香環をもつ基質を用いて基質一般性を検討した。その結果、フェニル基を有するヒドラゾンを用いて反応を行うとピラゾール**22j**が83%の収率で得られた。また、ベンゼン環上に様々な置換基をもつ場合やナフチル基の場合でも、良好な収率でピラゾール**22k-t**が得られ、本反応が基質一般性に優れていることが明らかとなった。



^a Hydrazone donor (1.2 equiv) and MsOH (2 equiv) were used.

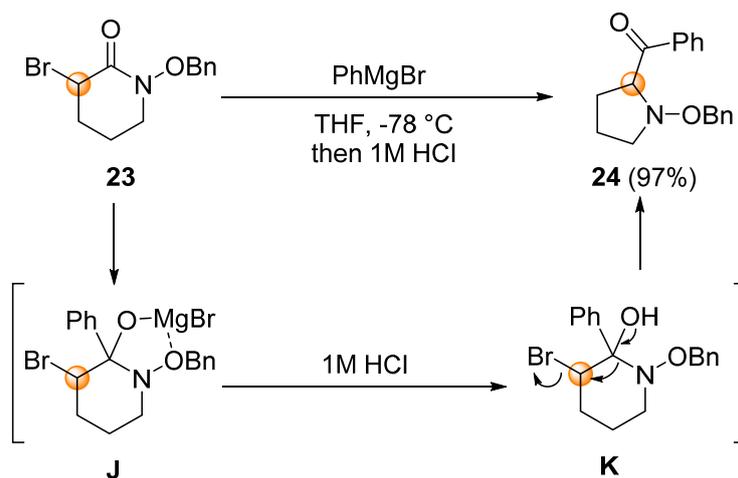
^b Hydrazone donor (2 equiv) and MsOH (5 equiv) were used.

Scheme 10. Cross-condensation of hydrazones **20** and **21**.

2-3. *N*-アルコシラクタムの求核種の導入を伴う環縮小反応¹⁰⁾

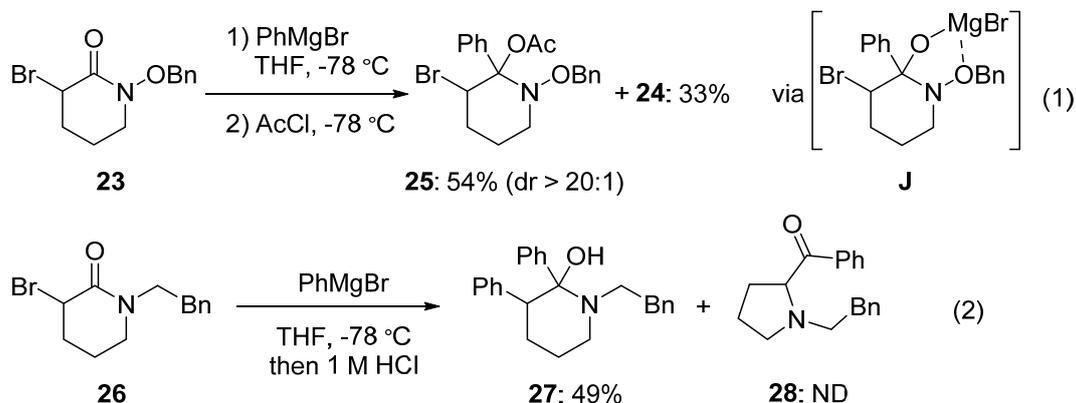
環縮小反応は骨格変換が行える有用な反応であるため、これまで様々な方法が開発され、多種多様な環状化合物の合成に応用されている。特に Favorskii 転位は α -ハロ環状ケトンを経由して環縮小した炭素環化合物に変換できる有用な方法である。しかし、本反応をラクトンやラクタムに適応すれば環縮小したヘテロ環構築が可能であるが、これまでほとんど検討されていない。¹¹⁾ そこで新たな含窒素ヘテロ環構築法を開発する目的で、Aza-Favorskii 型転位を利用した連続反応を検討した。すなわち窒素原子上にアルコキシ基および α 位に脱離基を有する

ラクタムを有機金属試薬と反応させると、環縮小反応だけでなく、炭素求核種の導入も期待できると考えた。初めに、 α 位にプロモ基を有する *N*-アルコキシラクタム **23** を -78°C で PhMgBr と反応させた後、塩酸で処理すると期待通りフェニル基の求核付加反応と環縮小反応が進行した 2-アシルピロリジン **24** が 97%の収率で得られた (Scheme 11)。本反応はフェニル基の求核付加反応による五員環キレート **J** の生成した後、酸処理によるヘミアミナル **K** の生成および環縮小が連続的に進行した結果、**24** が得られたと考えている。



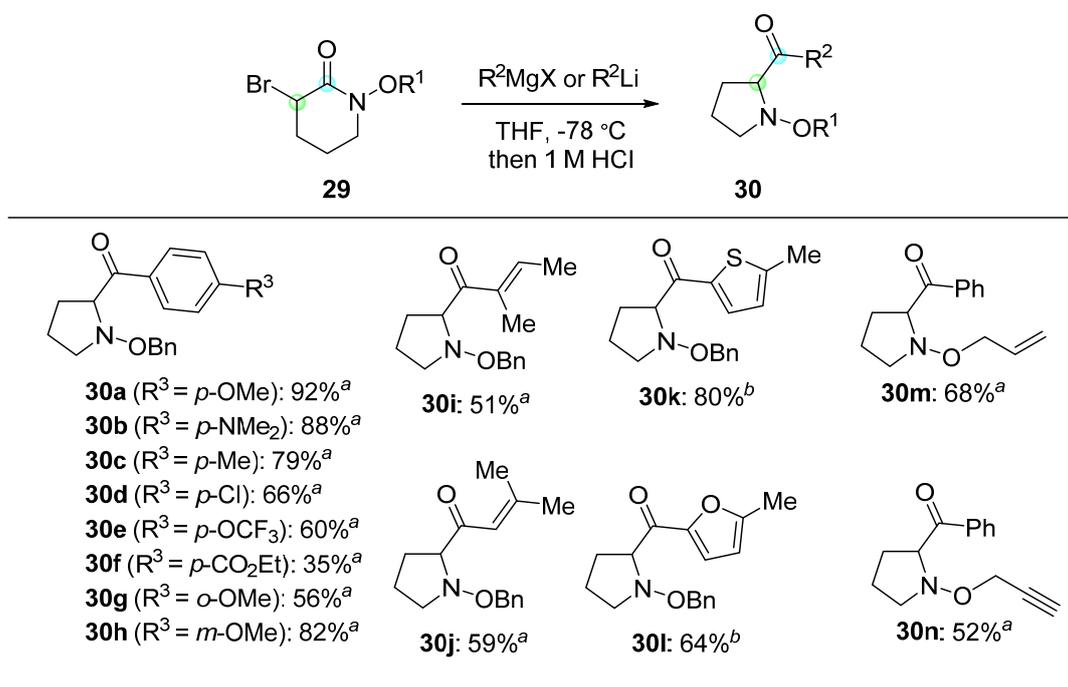
Scheme 11. Nucleophilic addition/ring contraction of *N*-alkoxylactams.

次に PhMgBr で反応を行った後、塩化アセチルで処理したところ、*O*-アセチル化されたピペリジン誘導体 **25** が得られた (Scheme 12-1)。この結果から、本反応においてキレート中間体 **J** の生成が示唆された。次に、連続した窒素-酸素結合の必要性を確認する目的で、窒素原子上にフェネチル基を有するラクタム **26** を用いて、本反応を検討した (Scheme 12-2)。その結果、フェニル基の求核付加反応のみが進行した **27** が得られ、連続した窒素-酸素結合は、環縮小反応において必須であることが明らかになった。



Scheme 12. Control experiments.

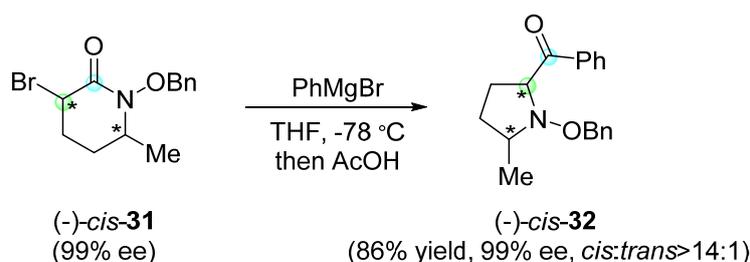
次に、様々なアリール基の導入を検討した (Scheme 13)。ベンゼン環上のパラ位に電子供与基を有する Grignard 試薬を用いて本反応を行ったところ、高収率で目的の α -アシルピロリジン **30a-c** が得られた。一方、パラ位に電子求引基をもつ場合や、オルト位に置換基をもつ Grignard 試薬との反応では、収率が低下した (**30d-g**)。また、本反応は芳香環のみでなくアルケニル基の導入にも適応可能であり、 α, β -不飽和ケトン **30i-j** が合成できる。さらに、有機リチウム試薬を用いたチオフェンやフランなどのヘテロアリール基の導入にも成功した (**30k-l**)。また、アルコキシ基上の置換基については、今後の構造展開の足掛かりとなるアリール基やプロパルギル基をもつ *N*-アルコキシラクタムにおいても、目的の連続反応が進行した (**30m-n**)。



^a R^2MgBr was used. ^b R^2Li was used.

Scheme 13. Nucleophilic addition/ring contraction with various organometallic reagents.

最後に、光学活性な *N*-アルコキシラクタム **31** を基質とし、 $PhMgBr$ を用いて連続反応を検討した (Scheme 14)。その結果、期待通り、反応は立体選択的に進行し、光学純度を損なうことなく α -アシルピロリジン **32** が得られた。



Scheme 14. Diastereoselective phenylation/ring contraction of **(-)-cis-31**.

3. おわりに

以上のように、連続したヘテロ原子の求核性を基盤とした付加反応や転位反応を巧みに組み合わせた多段階連続反応によるヘテロ環骨格の新規合成法を開発した。連続ヘテロ原子結合は、高い求核性をもつだけでなく、切断されやすいなどの興味深い性質ももっている。その潜在的な特性を最大限に活用することで、連続するヘテロ原子の未知なる性質を解明し、新しい化学を開拓すべく研究を展開中である。本研究が革新的医薬品創出の足掛かりとなり、既存薬を凌駕する、またはこれまでの作用機序とは全く異なる革新的治療薬の創製に繋がることを期待する。

4. 謝辞

本研究は、神戸薬科大学薬品化学研究室で実施されたものであり、すべての成果は研究室所属の武田紀彦講師、安井基博助教、学部・大学院生、研究員諸氏の努力の賜物であり、ここに深く感謝の意を表します。最後に本研究にご支援賜りました公益財団法人 篷庵社に心から御礼申し上げます。

5. 参考文献

- 1) Vitaku, E.; Smith, D. T.; Njardarson, J. T. *J. Med. Chem.* **2014**, *57*, 10257-10274.
- 2) (a) Ueda, M. *Chem. Pharm. Bull.* **2014**, *62*, 845-855. (b) Yasui, M.; Takeda, N.; Ueda, M. *Heterocycles* **2020**, *100*, 321-369.
- 3) Konishi, K.; Takeda, N.; Yasui, M.; Matsuzaki, H.; Miyata, O.; Ueda, M. *J. Org. Chem.* **2019**, *84*, 14320-14329.
- 4) (a) Archambeau, A.; Miege, F.; Meyer, C.; Cossy, J. *Acc. Chem. Res.* **2015**, *48*, 1021-1031. (b) Zhu, Z.-B.; Wei, Y.; Shi, M. *Chem. Soc. Rev.* **2011**, *40*, 5534-5563.
- 5) (a) Shimada, T.; Nakamura, I.; Yamamoto, Y. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 10546-10547. (b) Li, G.; Huang, X.; Zhang, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 346-349. (c) Takaya, J.; Udagawa, S.; Kusama, H.; Iwasawa, N. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2008**, *47*, 4906-4909.
- 6) Konishi, K.; Yasui, M.; Okuhira, H.; Takeda, N.; Ueda, M. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 6852-6857.
- 7) Yasui, M.; Hasegawa, M.; Konishi, K.; Takeda, N.; Ueda, M. *Heterocycles*, DOI: 10.3987/COM-20-S(K)43.
- 8) Matsuzaki, H.; Takeda, N.; Yasui, M.; Ito, Y.; Konishi, K.; Ueda, M. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 9249-9252.
- 9) (a) Lazny, R.; Nodzevska, A. *Chem. Rev.* **2010**, *110*, 1386-1434. (b) de Gracia Retamosa, M.; Matador, E.; Monge, D.; Lassaletta, J. M.; Fernández, R. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 13430-13445.
- 10) Takeda, N.; Kobori, Y.; Okamura, K.; Yasui, M.; Ueda, M. *Org. Lett.* **2020**, *22*, 9740-9744.
- 11) (a) Henning, R.; Urbach, H. *Tetrahedron Lett.* **1983**, *24*, 5339-5342. (b) Kobayashi, S.; Kinoshita, T.; Kawamoto, T.; Wada, M.; Kuroda, H.; Masuyama, A.; Ryu, I. *J. Org. Chem.* **2011**, *76*, 7096-7103.

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