

総 説

特異な化学構造と顕著な生物活性を有する  
天然物の合成研究

加藤 正

Synthetic Studies on Natural Products Possessing Unique Chemical Structures and  
Remarkable Biological Activities

Tadashi KATOH

(Received November 22, 2005)

はじめに

近年, 植物, 微生物および海洋生物から抗がん活性, 抗エイズ活性, 痴呆抑制作用, 高脂血抑制作用など重要な生物活性を示す物質が数多く見いだされており, 医薬品のリード化合物として注目されている. 一般にこれら天然物は複数の不斉炭素に加え, 酸素や窒素などの官能基が組み込まれた特異な構造を有するものが多く, その化学合成は既存の合成反応をただ組み合わせるだけで

は容易に達成することはできない. その目的を達成するためには, 分子構造全体の構築を見通しての斬新な合成ルートや革新的な分子変換反応の開発が必要である. また, 重要な生物活性を有する天然物の効率的で柔軟性に富んだ合成ルートの開発は, 創薬における物質供給という観点から, 今後ますますその重要性が増してくると考えられる<sup>1,2)</sup>.

著者は, これまで特異な構造により有機合成化

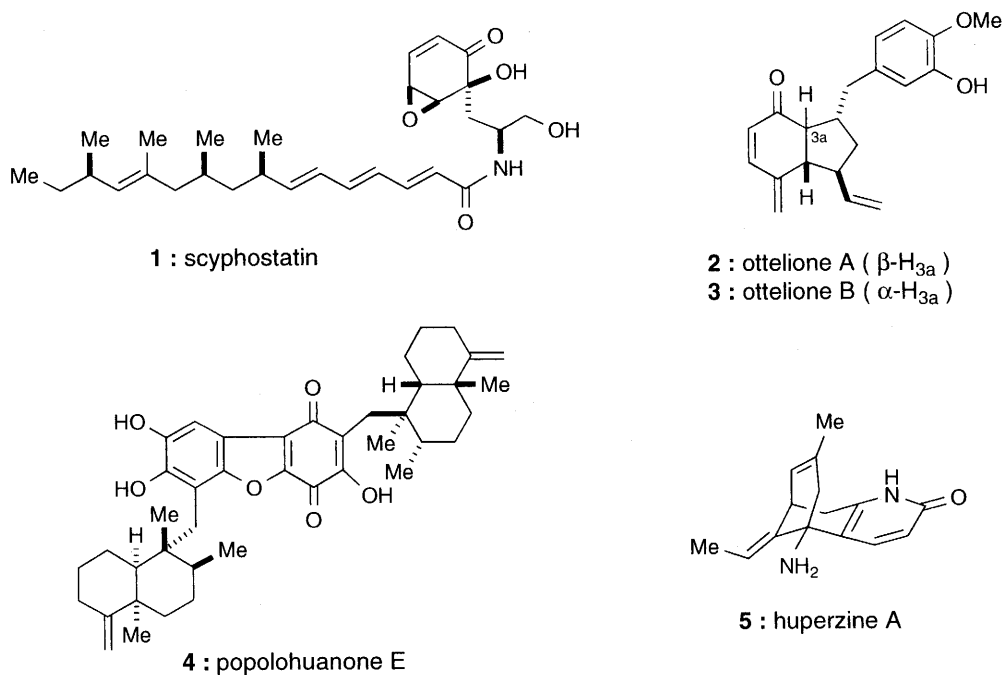


Fig. 1. Structures of scyphostatin (1), otteliones A (2), B (3), popolohuanone E (4), and huperzine A (5)

学的に興味を持たれ、しかも、顕著な生物活性を有する天然物を標的化合物として取り上げ、独自の炭素骨格構築法、立体制御法および官能基導入法を基盤とする合成方法論を開発し、それら天然物の合成を行ってきた<sup>3-9)</sup>。さらに、開発した合成法を応用して多くの類縁化合物の合成も行い、構造活性相関の知見を得るとともに、天然物を凌駕するような優れた化合物の探索も試みた。本稿では、著者がこれまでにやってきた研究プロジェクトの中から、中性スフィンゴミエリナーゼ阻害物質スキホスタチン(1)、チューブリン重合阻害物質オツテリオンA(2)、B(3)、トポイソメラーゼII阻害物質ポポロファノンE(4)、およびアセチルコリンエステラーゼ阻害物質フェルジンA(5)の全合成研究について紹介したい。

## 1. 中性スフィンゴミエリナーゼ阻害物質スキホスタチンの全合成

スフィンゴ脂質は生体膜の構成成分として細胞を構造的に維持することや、生体内で栄養素として機能していると考えられていた。しかしながら、近年、分子生物学・分子細胞学の急速な進歩に伴い、スフィンゴ脂質は細胞内シグナル伝達物質(セカンドメッセンジャー)として、細胞の増殖・分化、アポトーシスなどのさまざまな細胞機能発現に関与していることが明らかにされた。中でもスフィンゴミエリンの加水分解生成物であるセラミドは、アポトーシス誘導、細胞増殖抑制のみならず、神経突起の伸長、ストレス応答、老化現象、炎症反応、遺伝子転写、脂質代謝などにも関与していることが明らかにされている。したがって、スフィンゴミエリンの特異的な加水分解酵素であるスフィンゴミエリナーゼ(SMase)の強力かつ特異的な阻害剤は、セラミドを介する細胞内(外)の情報伝達機構解明のための有効な分子プローブとなるほか、細胞内のセラミドレベルの上昇によって引き起こるさまざまな疾患(例えば、中枢系、炎症系、免疫系など)の治療薬としての臨床応用が期待されている。

1997年、三共(株)の荻田らにより糸状菌(*Dasyscyphus mollissimus* SANK-13892)から単離・構造決定されたスキホスタチン(1)は、中性

スフィンゴミエリナーゼ(N-SMase)に対して強力かつ選択的な阻害作用を示し( $IC_{50}=1.0 \mu M$ )、多くの生物系研究者および創薬研究者から注目を集めている<sup>10)</sup>。また、本化合物は高度に官能基化されたエポキシシクロヘキセノン環部と長鎖不飽和脂肪酸部がアミド結合した特異な化学構造を有しており、合成化学的にも大変興味深い。著者らはスキホスタチン(1)の特異な化学構造と優れた生物活性に興味を持ち、1998年に合成研究を開始し<sup>11-14)</sup>、2004年に(+)-1の最初の全合成に成功した<sup>15)</sup>。

### 1-1. 合成計画

スキホスタチン(1)の逆合成解析をChart 1に示す。すなわち、スキホスタチン(1)のエポキシシクロヘキセノン環部は化学的に不安定であると予想されたため、シクロヘキセン環部6と長鎖不飽和脂肪酸部7とのアミド結合を形成させた後に構築することとした。シクロヘキセン環部6は、ジエン8の閉環メタセシス(RCM)反応により合成し、C-4位の不斉四級炭素の構築およびアミノプロパノールユニットの導入は、メチルエステル9とGarnerアルデヒド(10)とのカップリング反応により高立体選択的に行えると考えた。メチルエステル9の連続する三つの不斉炭素はD-アラビノース(11)の不斉源をそのまま利用することとした。

一方、長鎖不飽和脂肪酸部7の共役トリエン部は、シリルエーテル12からHorner-Wadsworth-Emmons(HWE)反応を経由して構築できると考えた。シリルエーテル12の三置換オレフィン部は、ヨウ化ビニル13とヨウ化アルキル14との根岸カップリング反応により立体特異的に合成できると考えた。

### 1-2. シクロヘキセン環部6の合成

まず、シクロヘキセン環部6の合成をChart 2に示す合成ルートに従って行った。市販のD-アラビノース(11)より既知の方法で調製できるアルコール15を出発物質として用い、水酸基のp-メトキシベンジル(PMB)保護、ベンジルアセタ

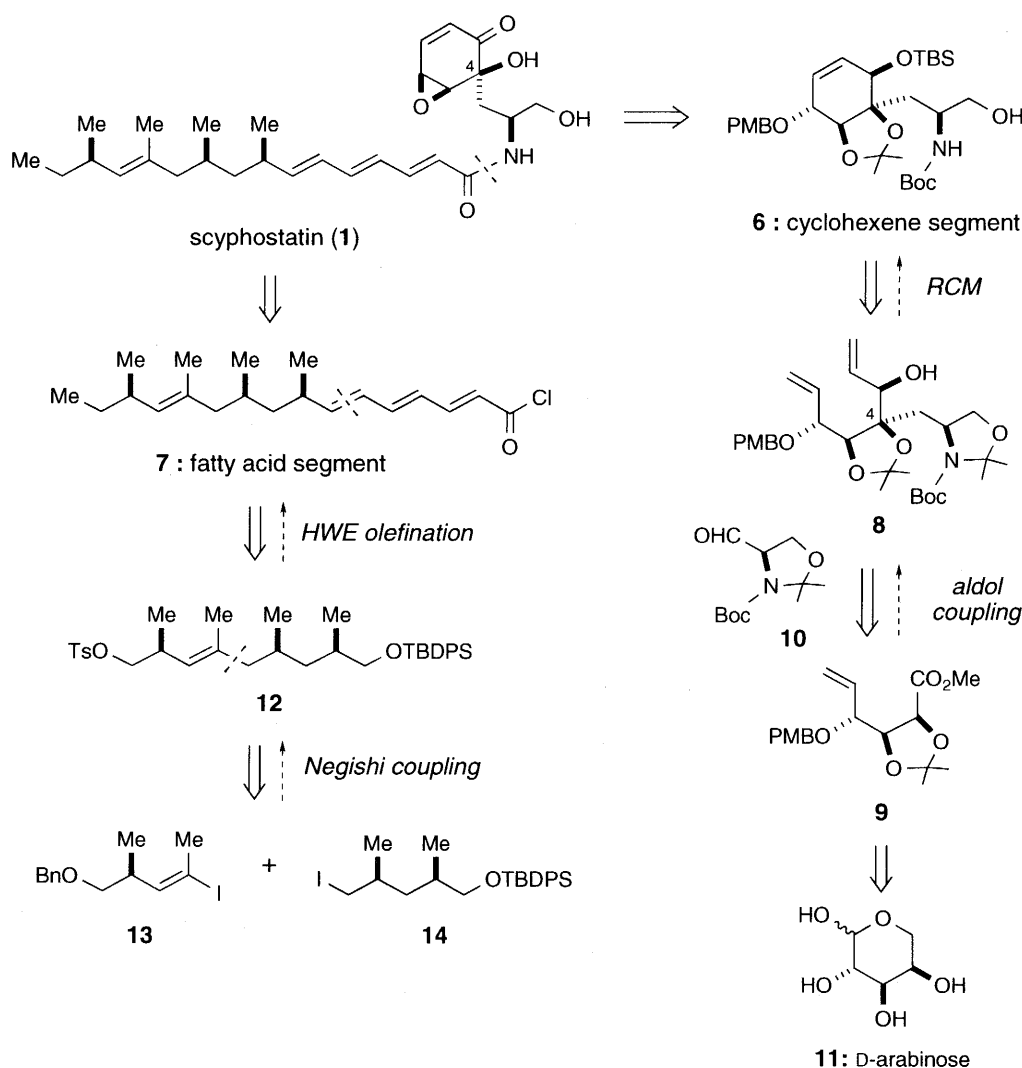


Chart 1. Retrosynthetic plan for scyphostatin (1)

ールの加水素分解, 生じたヘミアセタールに対する Wittig 反応を順次行い, 一炭素増炭したアルコール **16** に導いた. 続いて, アルコール **16** を Swern 酸化,  $\text{NaClO}_2$  酸化,  $\text{CH}_2\text{N}_2$  によるメチルエステル化を経てエステル **9** へと変換した. C-4 位の不斉四級炭素を構築するために, メチルエステル **9** と Garner アルデヒド (**10**) とのカップリング反応について検討を行った. 種々条件検討を行った結果, 1.2 当量の  $\text{NaN}(\text{SiMe}_3)_2$  を塩基として用い, 1.1 当量の Garner アルデヒド (**10**) を  $-78^\circ\text{C}$  で 4 時間反応させることで, アミノプロ

パノールユニットが導入された **17** を高立体選択的に得た (69%). カップリング体 **17** の二級水酸基は, メチルキサンテート経由でラジカル的に除去して **18** に変換し, この段階で NOESY 測定を行うことにより, C-4 位の不斉四級炭素の立体化学を確認した. このアルドール型カップリング反応の立体選択性は, メチルエステル **9** から生じるエノラートに対して, 立体的に空いている  $\alpha$  面より Garner アルデヒド (**10**) が接近して行くことにより発現したものと思われる.

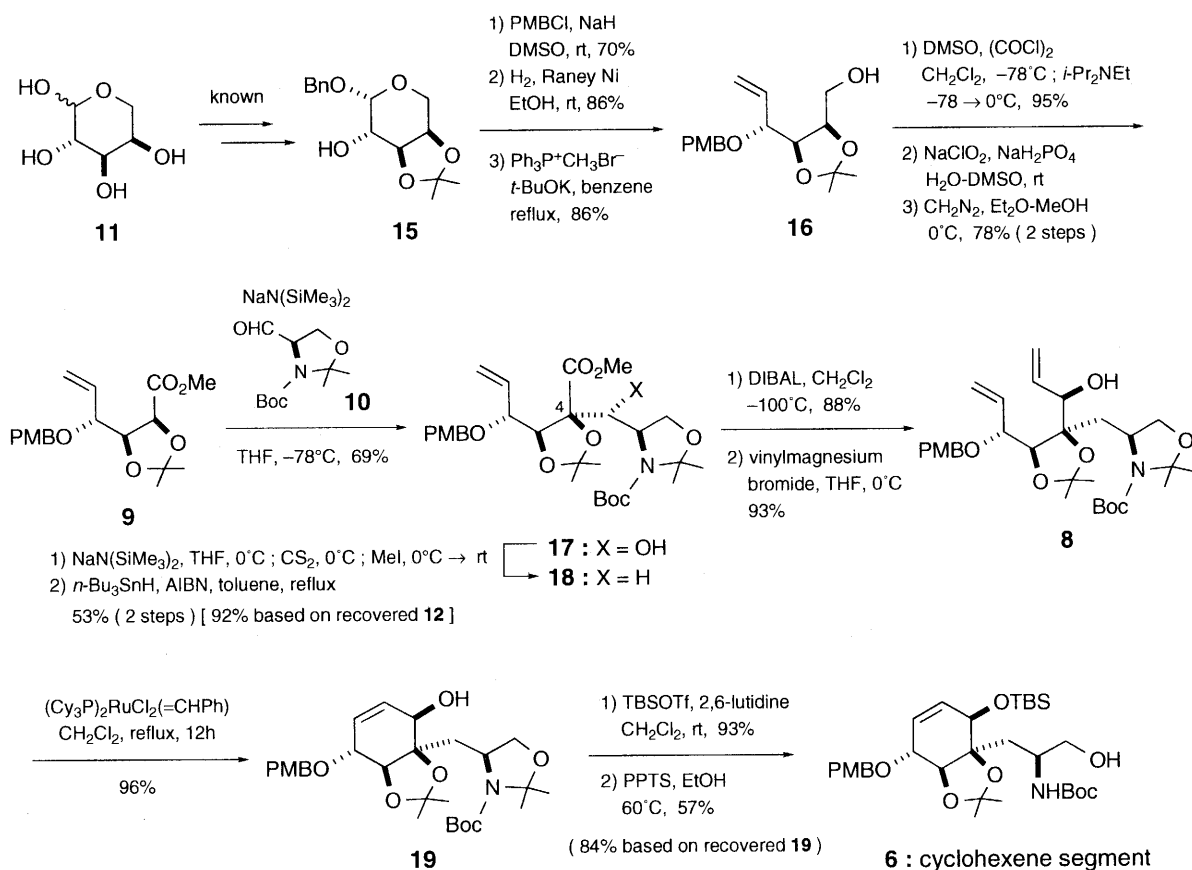


Chart 2. Synthesis of the cyclohexene segment 6

望みの不斉四級炭素を構築することができたので、次にシクロヘキセン環の構築について検討を行った。すなわち、メチルエステル **18** をジソブチルアルミニウムヒドリド (DIBAL) 還元によりアルデヒドとし、続く臭化ビニルマグネシウムとの反応により、閉環メタセシス反応の前駆体となるジエン **8** に変換した。得られたジエン **8** を Grubbs 触媒 (第一世代) (10 mol %) を用いて閉環メタセシス反応を行ったところ、96% という高収率で望みのシクロヘキセノール **19** を得ることができた。続いて、**19** の二級水酸基の *t*-ブチルジメチルシリル (TBS) 保護および、アセトニド基の選択的な脱保護により、目的とするシクロヘキセン環部 **6** を合成した。

### 1-3. 長鎖不飽和脂肪酸部 7 の合成

次に、スキホスタチンの長鎖不飽和脂肪酸部 **7** の合成を行った (Chart 3)。市販の光学活性な

(*R*)-(-)-および(*S*)-(+)-3-ヒドロキシ-2-メチルプロピオン酸メチルより、それぞれ既知の方法で合成できるアルデヒド **20** およびオレフィン **22** を出発物質として用いた。根岸カップリング反応の前駆体となる三置換ヨウ化ビニル **13** は、アルデヒド **20** を Corey-Fuchs の方法によりメチルアセチレン **21** とし、次いで Cp<sub>2</sub>ZrHCl を用いたヒドロジルコネーションとそれに続くヨウ素化により調製した。一方、**13** のカップリング相手となるヨウ化アルキル **14** の合成は、オレフィン **22** のオゾン分解、NaBH<sub>4</sub> 還元、メシル化、ヨウ素化により行った。ヨウ化ビニル **13** とヨウ化アルキル **14** との根岸カップリング反応の条件を種々検討した結果、Smith の改良法により **14** の亜鉛試薬を調製し、Pd 触媒存在下 **13** と反応させることにより、目的とするクロスカップリング体を 81% の高収率で得ることができた。続いて、カップリング体のベンジル基をリチウム *ジ-t*-ブ

チルジフェニリド (LiDBB) を用いて脱保護を行いアルコールとし、さらに、トシル化してトシル体 **12** に導いた。トシル体 **12** から長鎖不飽和脂肪酸部 **7** への変換は、Hoye のスキホスタチンの側鎖合成を参考にして行った。すなわち、トシル体 **12** に  $\text{Me}_2\text{CuLi}$  を反応させメチル基を導入し、次いで *t*-ブチルジフェニルシリル (TBDPS) 基の脱保護および テトラプロピルアンモニウムペルテナート (TPAP) 酸化を行うことによりアルデヒド **23** に変換した。さらに、このアルデヒド **23** に対して HWE 反応を行い、トリエン部を導入したメチルエステル **24** を合成した。この合成品 **24** の各種スペクトルデータは、文献値<sup>10)</sup> と

良い一致を示した。最後に、メチルエステル **24** を水酸化カリウム水溶液を用いて加水分解し、得られたカルボン酸を酸塩化物に変換することで長鎖不飽和脂肪酸部 **7** を調製することができた。

#### 1-4. (+)-スキホスタチン (1) の全合成

シクロヘキセン環部 **6** と長鎖不飽和脂肪酸部 **7** の合成に成功したので、次に両セグメントを用いてスキホスタチン (1) の全合成に向けて、さらなる検討を行った (Chart 4)。すなわち、**6** の *t*-ブトキシカルボニル (Boc) および PMB 保護基をトリメチルシリルトリフラート (TMSOTf) を用いて同時に脱保護を行い、生じたアミンに対し

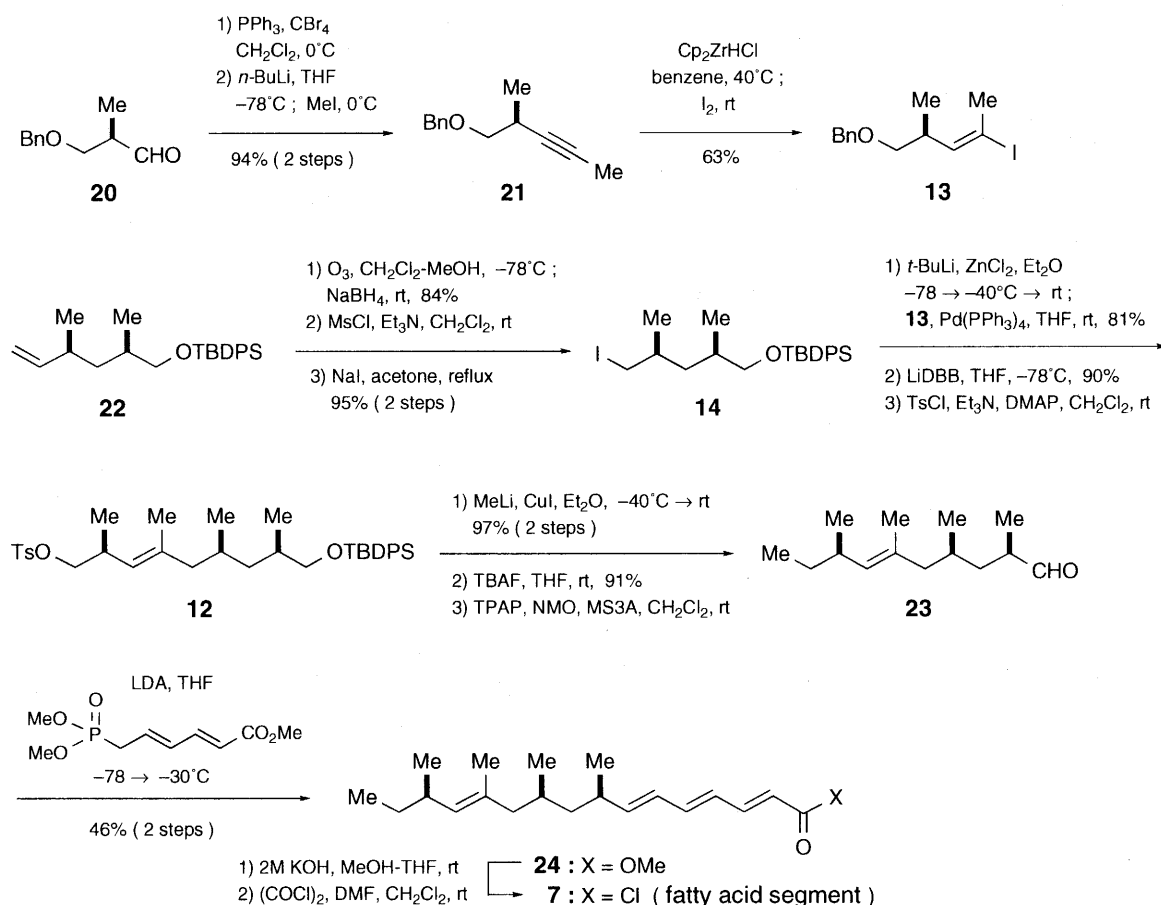


Chart 3. Synthesis of the fatty acid segment **7**

Et<sub>3</sub>N 存在下, 酸塩化物 **7** を作用させることにより, アミド **25** を 73% の好収率で得ることができた. アミド **25** の一級水酸基の選択的なアセチル保護によりアセタート **26** に導き, 次いで二級水酸基のメシル化によりメシラート **27** とした. さらに, **27** の TBS 基の脱保護と Dess-Martin 酸

化を行い, エノン **28** へと収率よく変換することができた.

次に, エポキシ環の構築とアセチル基の脱保護について検討を行った. まず, 以前, 著者らがスキホスタチンのモデル合成において見いだしたエポキシ環構築の条件<sup>11,12)</sup> を適用することにし

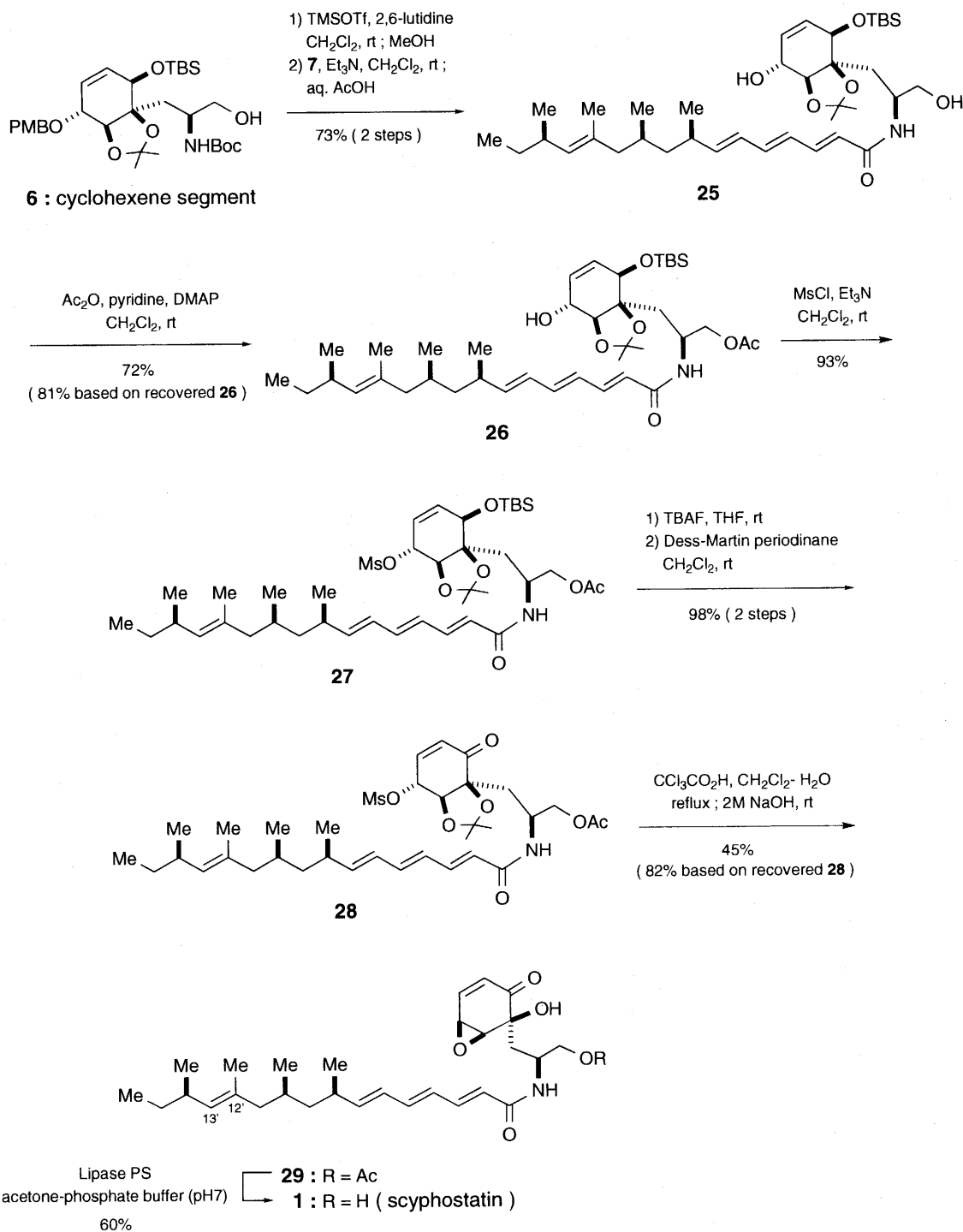


Chart 4. Completion of the total synthesis of scyphostatin (**1**)

た。すなわち、トリフルオロ酢酸によるエノン **28** のアセトニドの脱保護、それに続く水酸化ナトリウム水溶液によるエポキシ環の形成を試みた。しかしながら、不飽和脂肪酸部の孤立オレフィン (C-12'/C-13') の異性化等が起こり、望みの化合物 **29** を得ることはできなかった。そこで種々条件検討を行った結果、トリフルオロ酢酸の代わりにトリクロロ酢酸を用いることにより、オレフィンの異性化を抑制してアセトニド基の脱保護が行うことができ、続くワンポットでの塩基処理によりエポキシ環の形成が速やかに進行し、目的とするエポキシシクロヘキセノン **29** が得られることを見いだした。化合物 **29** のアセチル基の脱保護は化学的条件による検討を行ったが、良い結果を得ることはできなかった。しかしながら、酵素的手法 (リパーゼ PS) を用いてアセチル基の脱保護を行ったところ、温和な条件で反応が進行し、(+)-スキホスタチン (**1**) が満足できる収率 (60%) で得られることが判明した。合成した (+)-スキホスタチン (**1**) の各種スペクトルデータ ( $^1\text{H NMR}$ ,  $^{13}\text{C NMR}$ , IR, MS,  $[\alpha]_D$ ) は天然物のそれらと良い一致を示した。

### 1-5. スキホスタチン類縁体 30a-f の合成

以上のように著者らは、スキホスタチン (**1**) の完全化学合成を世界に先駆けて達成し、これまで前人未到であったスキホスタチン類縁体合成に道を拓くことができた。まだ予備的な段階ではあるが、本合成法を応用して数種類の新規スキホスタチン類縁体 **30a-f** の合成に成功している (図2)。今後は、独自に開発した合成素子ライブラリーを用いて、「構造活性相関の解明」および「より優れた N-SMase 阻害の探索」を行う予定である。さらに、SMase に特異的に結合する低分子リガンドの開発を行い、酵素との結晶性複合

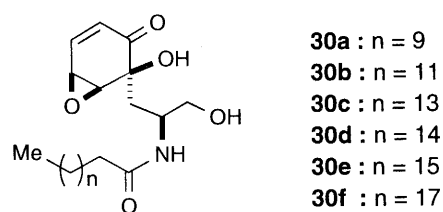


Fig. 2. Structures of scyphostatin analogues **30a-f**

体の形成さらにはX線結晶構造解析を実現させ、いまだ不明である本酵素の三次元立体構造や加水分解機構の解明にも挑戦したい。

## 2. チューブリン重合阻害物質オットリオンAおよびオットリオンBの全合成

オットリオンA (**2**) およびオットリオンB (**3**) は、1998年 Hoye らによってエジプトに生息する水草 (*Ottelia alismoides*) から単離された、非常に特異な4-メチレン-2-シクロヘキセノン構造を有する天然有機化合物である<sup>16</sup>。オットリオンA (**2**) は米国国立がん研究所 (NCI) で行われた『抗癌剤スクリーニング』の結果、極めて強力な *in vitro* 細胞毒性 (nM-pM) を示し、さらに、チューブリン上のシステインをアルキル化する能力を併せ持つ新しいタイプのチューブリン重合阻害物質であることが明らかになり (IC<sub>50</sub>=1.2 μM), 抗癌剤, あるいはそのリード化合物としての可能性が示唆されている<sup>16</sup>。単離当時, **3** の相対立体配置は決定されていたものの, **2** の構造は核間位がシス配置であることのみが決定されており, 相対および絶対立体配置は決定されていなかった。現在までに多くの合成研究が報告されており, 2002年に Mehta らによってラセミ体での最初の全合成が達成され, **2** および **3** の相対立体配置が明らかになった<sup>17</sup>。しかしながら, 絶対立体配置は依然不明のままであった。著者らは, 光学活性な **2** および **3** の最初の全合成を達成するとともに, 不明であったそれらの絶対立体配置を決定することができた<sup>18,19</sup>。

### 2-1. 合成計画

著者らが合成研究を開始した当時, オットリオンA (**2**) の相対および絶対立体配置は決定されていなかった。Chart 5 に著者らの合成計画を示す。すなわち, 二つのホルミル基が区別されたジアルデヒド等価体 **33** を鍵中間体と想定した。中間体 **33** は三環性化合物 **34** [光学活性エノン **36** とシクロペンタジエン (**35**) との Diels-Alder 反応により容易に得られる] から誘導可能であると考えた。中間体 **33** は, アリール基およびメチレン基を導入する際の足がかりとなる二つの

ホルミル基を有している (C-1位のホルミル基はヘミアセタールとしてマスクされている). また, 中間体 **33** のC-1位およびC-3位の立体化学はエピメリ化反応による制御が可能であるため, オットテリオンA (**2**) およびすべてのジアステレオマーの合成が可能である. さらに, **33** は対称性に優れており, C-4位およびC-7位の酸素官能基を区別することで, すべてのエナンチオマーの合成も可能であると考えた. 中間体 **33** はアリールリチウム試薬 **32** とのカップリング反応により, 中間体 **31** を経てオットテリオンA (**2**) およびオットテリオンB (**3**) へと変換可能であると考えた.

## 2-2. 中間体 **31** の合成

まず始めに, 中間体 **31** の合成を Chart 6 のスキームに従って行った. 出発物質として三環性化合物 **34** を用いた. 本化合物は光学活性エノン **36** とシクロペンタジエン (**35**) との高立体選択的 Diels-Alder 反応により容易にかつ収率良く得ることができる<sup>11)</sup>. 三環性化合物 **34** に水素化ホウ素ナトリウムを作用させてケトンの還元反応を行い, 望む  $\alpha$ -配置のアルコール **37** へと変換した後, Lemieux-Johnson 酸化によりオレ

フィン部の酸化開裂反応を行った. この際, 酸化開裂で生じた二つのホルミル基のうちC-1位のホルミル基は, C-7位の水酸基とヘミアセタールを形成し (**37**→**38**→**33**), 二つのホルミル基が区別された中間体 **33** を62%の収率で得ることができた.

中間体 **33** と芳香環部とのカップリング反応は速やかに進行し, 望むカップリング体 **39a,b** を4:1のジアステレオマー混合物として定量的に得た. この混合物をトルエン中加熱還流下, 1,8-ジアザビシクロ[5,4,0]ウンデカ-7-エン(DBU)で処理すると, ラクトール開環/C-1位エピメリ化反応が進行し, ヒドロキシアルデヒド **40** が30%の収率で得られることを見いだした. この反応において原料回収が60%であり, 反応を繰り返すことで約65%の収率で **40** を得ることができた. 化合物 **40** のホルミル基はエピメリ化しやすいため, 一旦, 還元してアルコール **41** とし, 次いでアセチル化によりジアセタート **42** に変換した. 化合物 **42** はベンジル位のアセトキシ基の除去と二つのアセチル基の加アンモニア分解により, ジオール **43** へと誘導した. 本化合物の二つの水酸基を Dess-Martin 酸化でケト

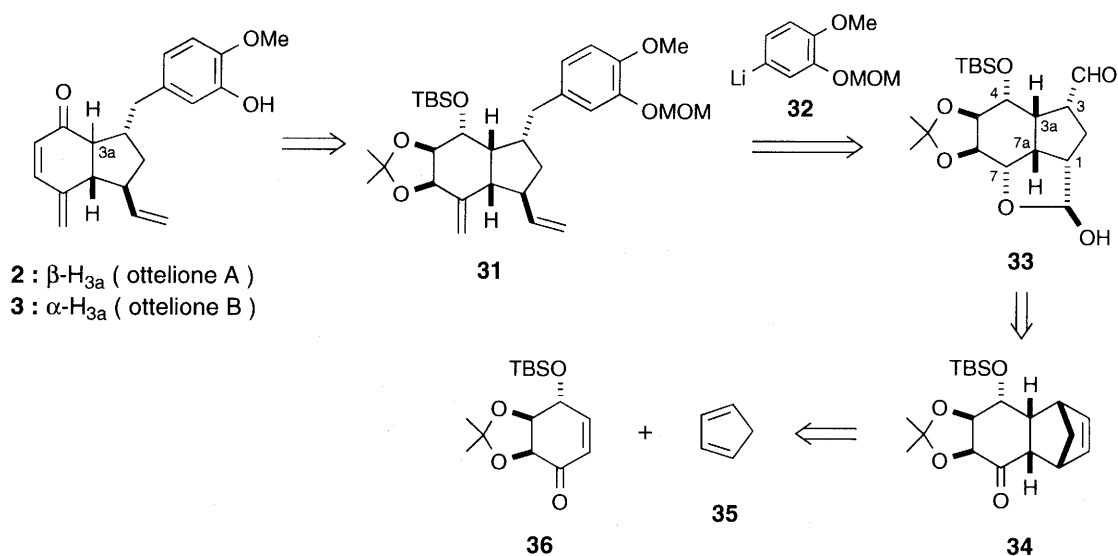


Chart 5. Synthetic plan for otteliones A (**2**) and B (**3**)



アルデヒド **44** とした後、段階的な Wittig 反応を行うことで、副反応を極力抑え、高収率で中間体 **31** へと変換することができた。

### 2-3. (+)-オッターリオン A (2) および (-)-オッターリオン B (3) の全合成

(+)-オッターリオン A (2) および (-)-オッターリオン B (3) の全合成を Chart 7 に示す合成経路

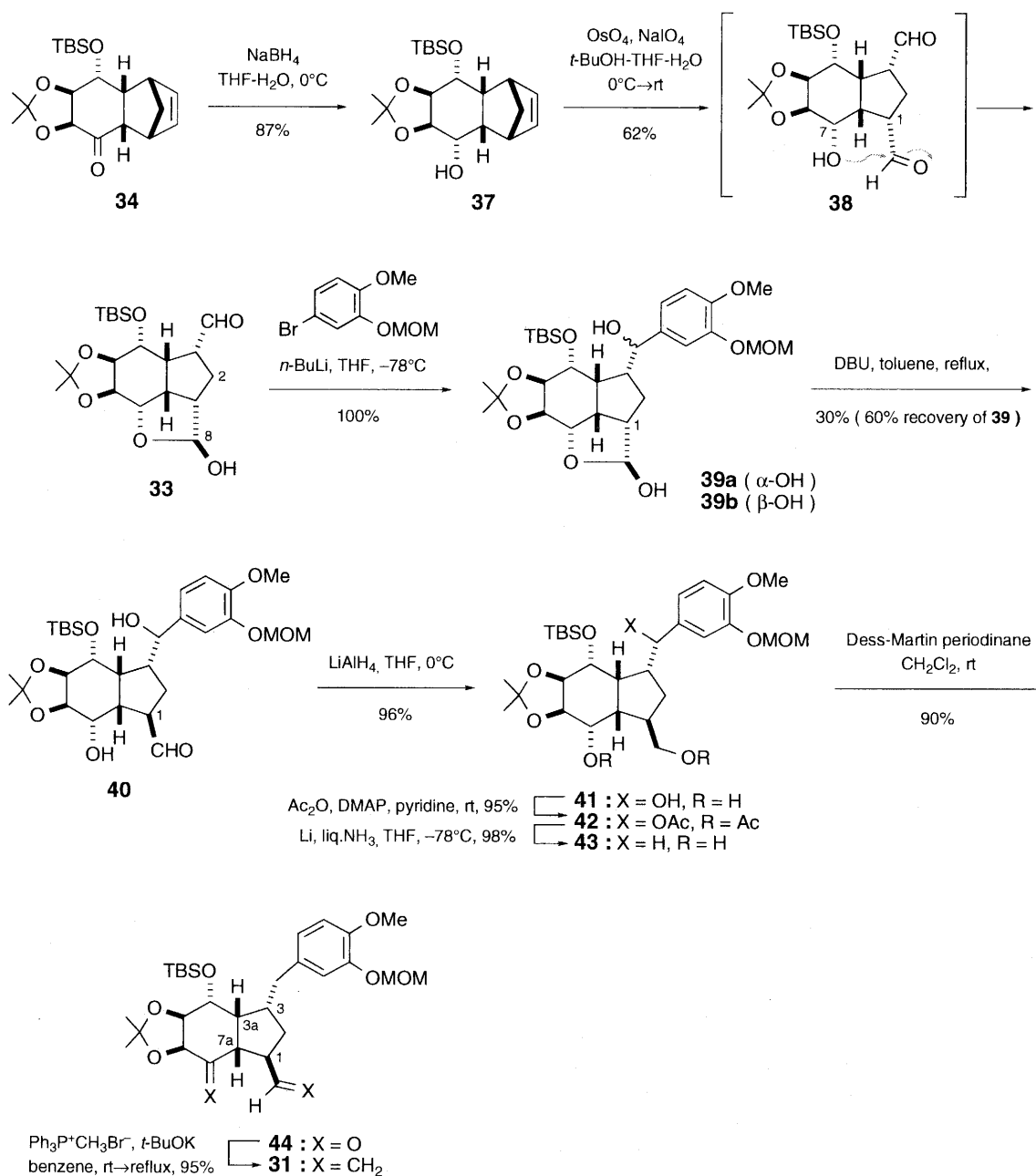


Chart 6. Synthetic of the key intermediates **31**

により達成した. すなわち, 中間体 **31** にトリフルオロ酢酸 (TFA) を作用させて, アセトニド基およびメトキシメチル基 (MOM) 基を除去してトリオール **45** とし, 次いでフェノール性水酸基の選択的アセチル化を行い, モノアセタート **46** に

導いた. 本化合物は環状チオカルボナート **47** を経由して, C-5位とC-6位の間に二重結合を導入してトリエン **48** へと変換した (Corey-Winter法). これらのどの段階においても, 反応は良好な収率で進行した. トリエン **48** はテトラブチ

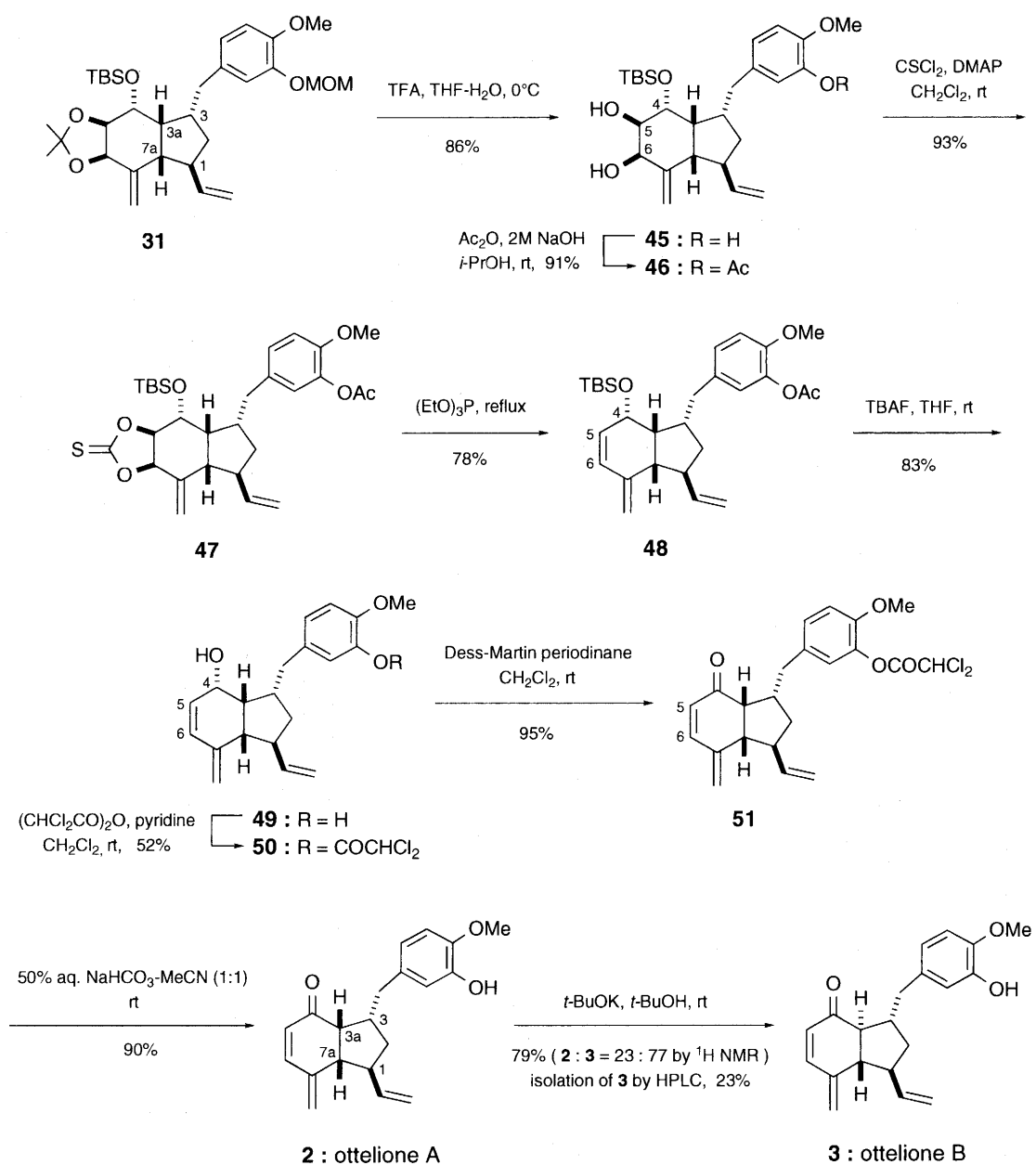


Chart 7. Completion of the total synthesis of ottelione A (**2**) and ottelione B (**3**)

ルアンモニウムフルオリド (TBAF) による TBS 基およびアセチル基の除去によりアルコール **49** とし、次いでフェノール性水酸基を選択的にジクロロアセチル化して化合物 **50** に導き、さらに Dess-Martin 酸化により 4-メチレン-2-シクロヘキサノン **51** へと変換した。当初、フェノール性水酸基の保護基としてアセチル基を用いていたが、最後の脱保護の段階で、C-3a 位の部分的なエピメリ化が観察されたため、より温和な条件で脱保護可能なジクロロアセチル基を用いることにした。化合物 **51** のジクロロアセチル基の加水分解は、50%炭酸水素ナトリウム水溶液を用いることにより速やかに進行し、目的とする (+)-オツテリオン A (**2**) の全合成を達成した。

最後に、(+)-オツテリオン A (**2**) から (-)-オツテリオン B (**3**) への変換について検討を行った。すなわち、**2** に *t*-ブトキシカリウムを作用させて C-3a 位のエピメリ化を行い、**2** : **3** = 23 : 77 の混合物として収率 79% で得た。この混合物を、DAICEL CHIRALPAK AD-H を用いた HPLC 分取を行い、(-)-オツテリオン B (**3**) を 23% の収率で得ることができた。合成した (+)-オツテリオン A (**2**) および (-)-オツテリオン B (**3**) の

各種スペクトル ( $^1\text{H NMR}$ ,  $^{13}\text{C NMR}$ , IR, MS,  $[\alpha]_D$ ) は天然物のそれらと良い一致を示した。このことより、今まで不明であった (+)-オツテリオン A (**2**) および (-)-オツテリオン B (**3**) の絶対立体配置をそれぞれ記載の構造式である (1*S*,3*S*,3*aR*,7*aS*) および (1*S*,3*S*,3*aS*,7*aS*) と決定した。

### 3. トポイセメラーゼ II 阻害物質ポポロファン E の全合成研究

ポポロファン E (**4**) は 1993 年、Scheuer らによりミクロネシア近海で採取された海綿 (*Dysidea* sp.) から単離・構造決定された海洋天然物であり、新規な 2,6-二置換-3,7,8-トリヒドロキシジベンゾフラン-1,4-ジオン構造 (三環性中心構造) を有している (図 3)<sup>20)</sup>。本化合物はトポイソメラーゼ II を強力に阻害 ( $\text{IC}_{50} = 0.4 \mu\text{M}$ ) するとともに、ヒト非小細胞肺癌細胞に対して選択的な細胞毒性を示すことが報告されている<sup>20)</sup>。ポポロファン E (**4**) の生合成仮説として、アレナロール (**53**) の 6' 位が水酸化された 6'-ヒドロキシアレナロール (**54**) の酸化的二量化反応が提唱されている<sup>20)</sup>。アレナロール (**53**) はポポロファン E が単離された同じ海綿から同時に単離さ

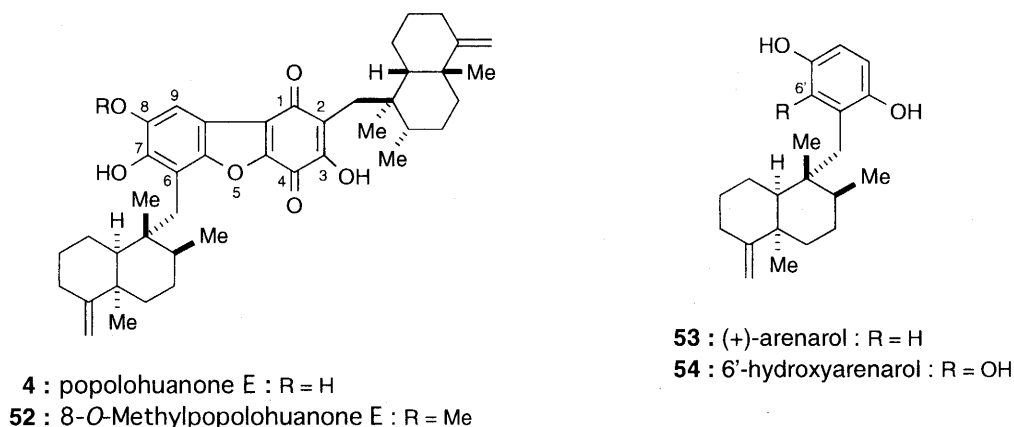


Fig. 3. Structures of popolohuanone E (**4**), 8-O-methylpopolohuanone E (**52**), (+)-arenarol (**53**), and 6'-hydroxyarenarol (**54**)

れているが、6'-ヒドロキシアレナロール (54) に関しては、ポポロファンEが単離された同じ海綿からも、また、他の海綿からも単離されるには至っていない。著者らはポポロファンEの顕著な生物活性と特異な化学構造、さらに、生合成経路に興味を持ち、光学活性ポポロファンEの全合成研究を開始した。現時点において、ポポロファンE (4) の全合成達成には至っていないが、8-O-メチルポポロファンE (52) の合成に成功しているので、その経緯について述べる<sup>21-23)</sup>。著者らの他に、Anderson ら<sup>24,25)</sup> による合成研究が報告されているが、4 の全合成の報告はこれまでのところなされていない。

### 3.1. 合成計画

ポポロファンE (4) の逆合成解析を Chart 8 に示す。提唱されている生合成仮説を意識して、4 の三環性中心構造を **a** および **b** の二箇所の位

置で切断する。本合成法の鍵工程は、フェノールセグメント 55 とキノンセグメント 56 との位置選択的環化反応 (55 + 56 → 4) である。フェノールセグメント 55 は、シス-デカリンセグメント 56 とアリールリチウム 57 とのカップリング反応により、また、キノンセグメント 56 は 59 とアリールリチウム 58 とのカップリング反応によりそれぞれ合成する。連続する四つの不斉炭素有するシス-デカリンセグメント 59 は、既知化合物である光学活性(-)-ウィーランド-ミッシャーケトン類縁体 60 を出発物質として用い、立体選択的に合成する。

### 3.2. モデル実験—三環性中心構造の一般的合成法の開発

上記合成計画の鍵工程であるフェノールセグメント 55 とキノンセグメント 56 との位置選択的環化反応の可能性を探るため、まず始めにモデ

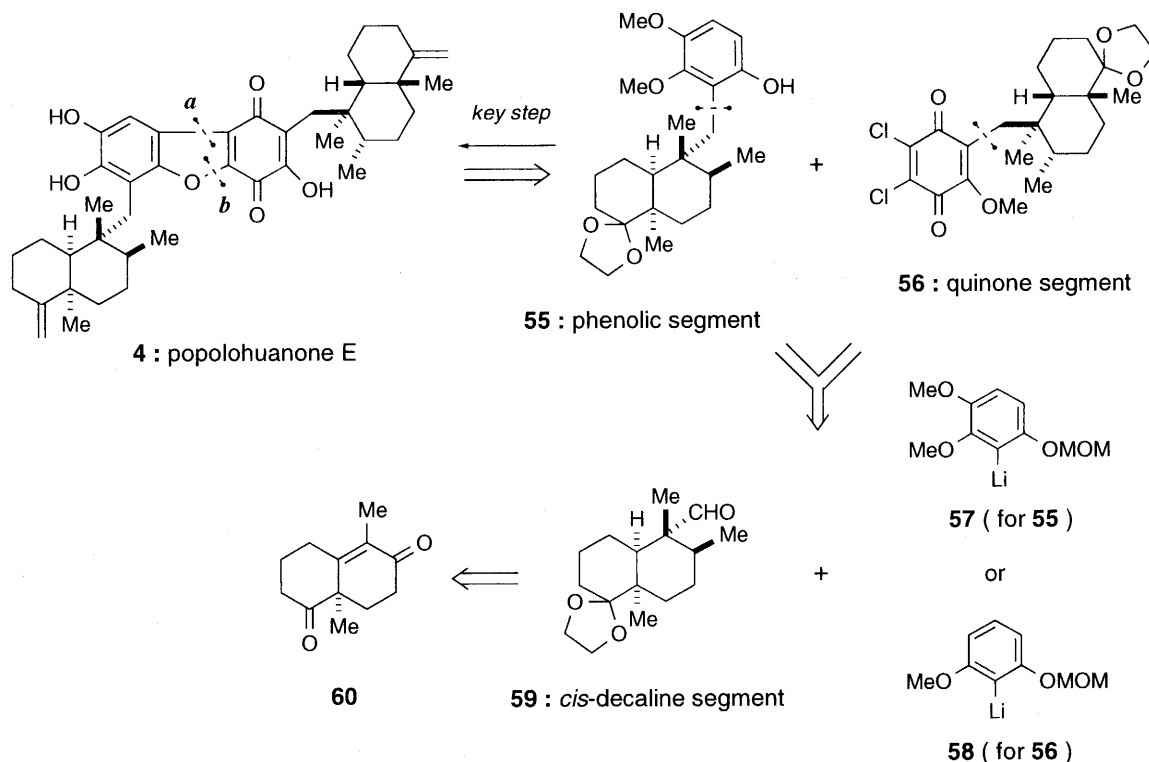


Chart 8. Synthetic plan for popolohuanone E (4)

ル実験として、ポポロファンE (4) の三環性中心構造に相当するモデル化合物 **65a-d** の構築法について検討を行った<sup>21</sup> (Chart 9). その結果、フェノールセグメント **61a-d** とキノンセグメント **62a-d** との位置選択的環化反応は、カップリング体 **63a-d** を経由する二段階の反応工程により速やかに進行することを見だし、望む三環性化合物 **64a-d** を良好な収率で得ることができた. なお、本環化反応をワンポットで一挙に行うことも試みたが、目的とする環化体の収率は20%程度と満足するものではなかった. 最後に、三環性化合物 **64a-d** の3つのメチル基の脱保護を行い、モデル化合物 **65a-d** の合成を達成した.

合成したポポロファンE関連化合物 **65a-d** について、ヒト非小細胞肺癌細胞 (A549, QG-56) およびヒト急性リンパ芽球性白血病細胞 (CCRF-CEM, CCRF-HSB2) を用いて細胞毒性試験を行った. その結果、三環性中心構造のC-2位とC-6位のアルキル基が立体的に嵩高くなるに

従って、細胞毒性が上昇する傾向が見られたが、ヒト非小細胞肺癌細胞に対する選択性は認められなかった. したがって選択性の発現には、ナフタレン環上のメチル基やメチレン基といった置換基が重要な役割を果たしていることが示唆された.

### 3.3. 光学活性シス-デカリンセグメント59の合成

ポポロファンE (4) の三環性中心構造に相当するモデル化合物 **65a-d** の合成に成功し、上記合成計画の鍵工程 (**55 + 56** → **4**, Chart 8) の妥当性を確認することができた. そこで次に、フェノールセグメント **55** とキノンセグメント **56** の合成に必要な光学活性シス-デカリンセグメント **59** の合成を Chart 10 のように行った. 本合成経路の鍵工程は、アリルアルコール **68** のオルトエステル-クライゼン転位反応による四級炭素の構築とオレフィン **70** のイリジウム触媒を用いる高立体選択的水素化反応である.

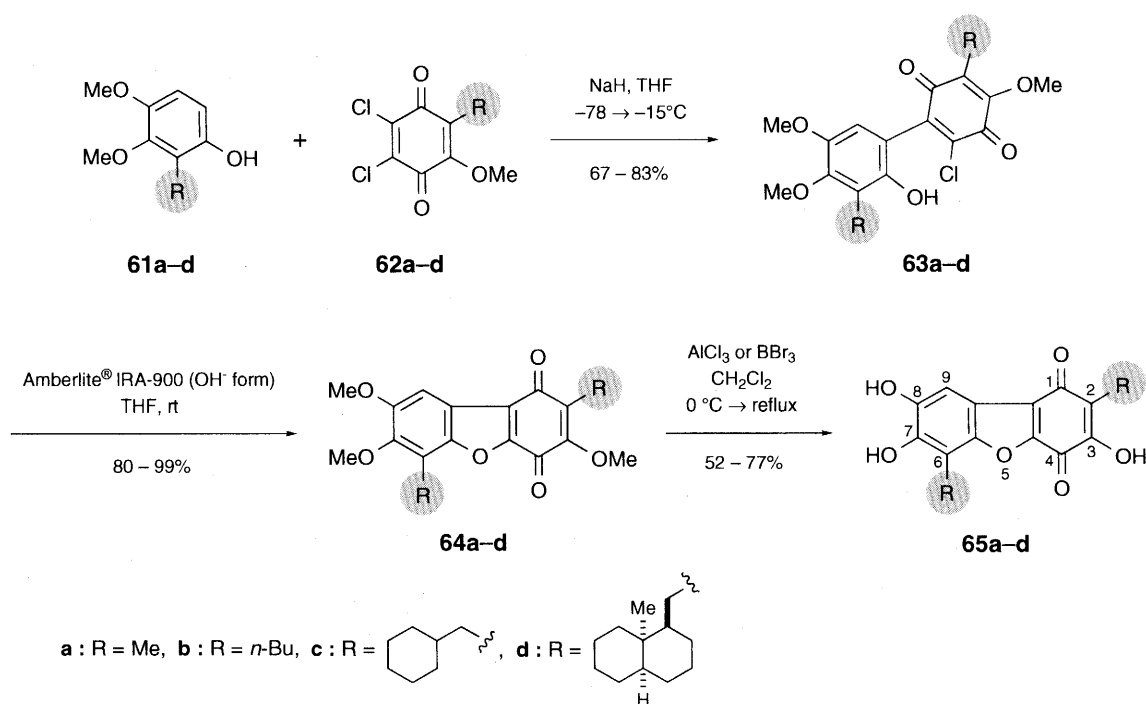


Chart 9. Synthetic of the model compounds **65a-d** for popolohuanone E (4)

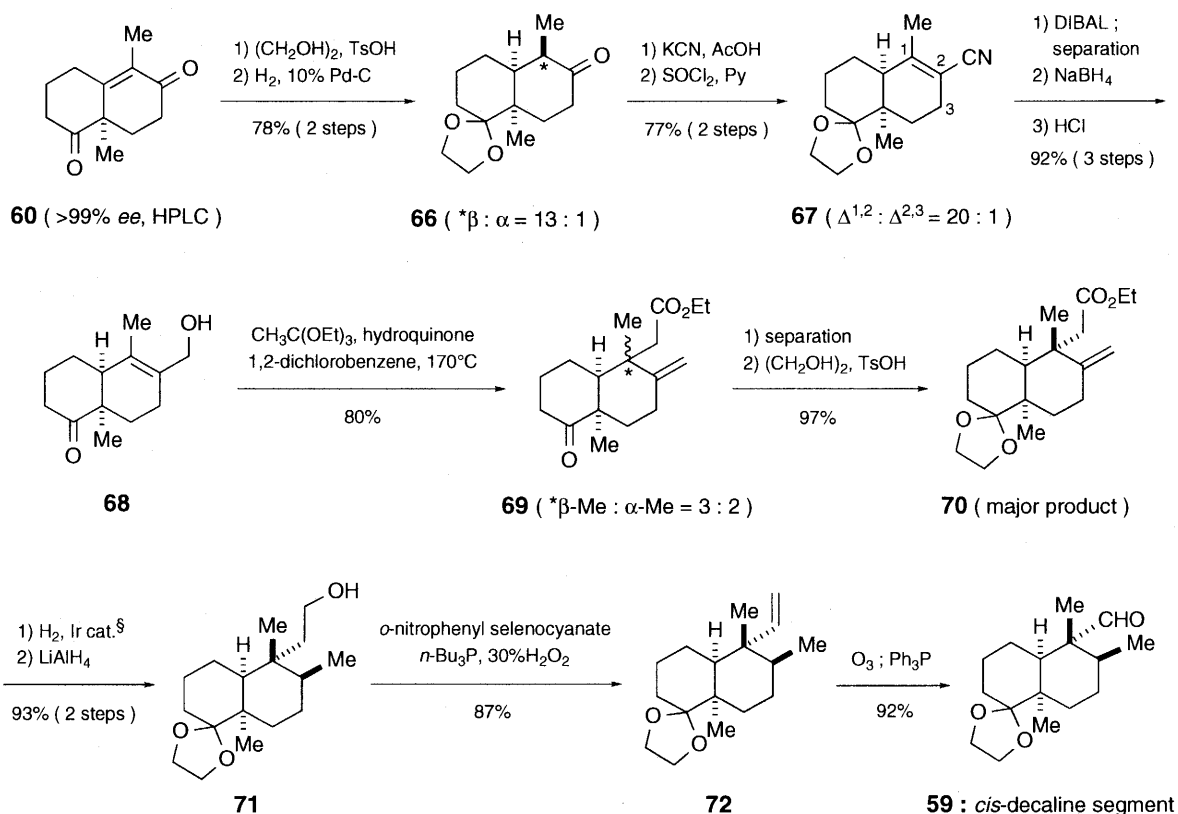
### 3.4. 光学活性フェノールセグメント **55** および 光学活性キノンセグメント **56** の合成

光学活性シス-デカリンセグメント **59** を合成することができたので、次に、鍵環化反応の基質となる光学活性フェノールセグメント **55** および光学活性キノンセグメント **56** を Chart 11 および Chart 12 に示す合成経路に従ってそれぞれ合成した。

### 3.5. フェノールセグメント **55** とキノンセグメント **56** との環化反応による8-O-メチルポロファノン E (**52**) の合成

次に、本合成法の鍵工程であるフェノールセグメント **55** とキノンセグメント **56** との位置選

択的環化反応を、モデル実験で得られた知見をもとに Chart 13 のように行い、カップリング体 **78** を経由して望む環化成績体 **79** を良好な収率で得た。さらに、**79** の二つのケタールを同時に除去し、生成した二つのカルボニル基に対してメチレン化を行いポロファノン E トリメチルエーテル (**80**) の合成を達成した。最後に、**80** からポロファノン E (**4**) への変換を目指し、三つのメチル基の脱保護について種々検討を行った。しかしながら、C-8 位のメチルエーテル部は非常に強固で除去することはできず、本研究は8-O-メチルポロファノン E (**52**) の合成に留まっている<sup>23)</sup>。



<sup>§</sup> Ir cat. = [Ir(cod)(PCy<sub>3</sub>)(Py)]<sup>+</sup>PF<sub>6</sub><sup>-</sup>

Chart 10. Synthesis of the *cis*-decaline segment **59**

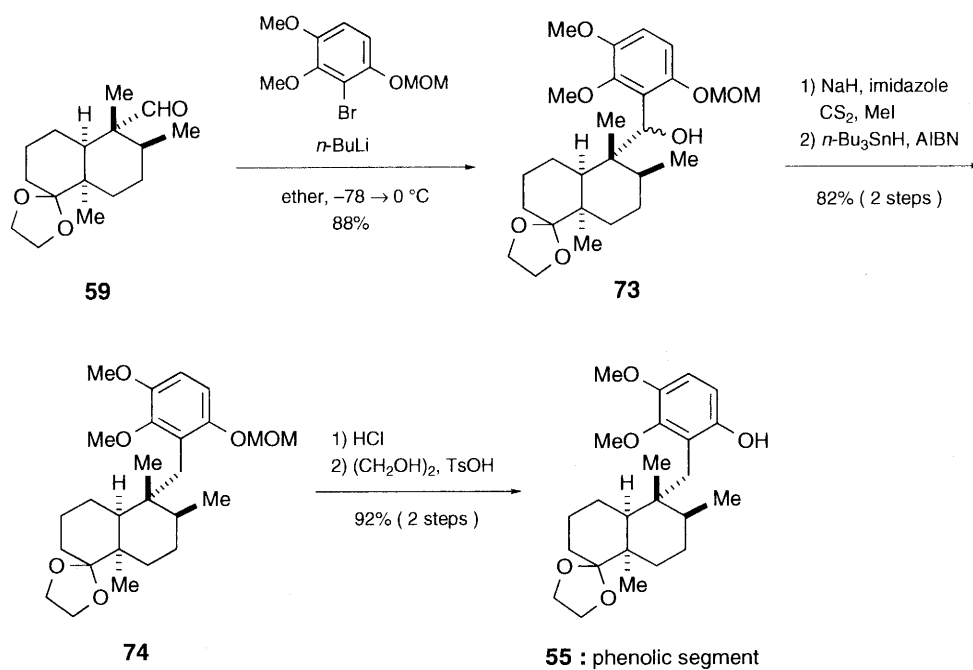


Chart 11. Synthesis of the phenolic segment 55

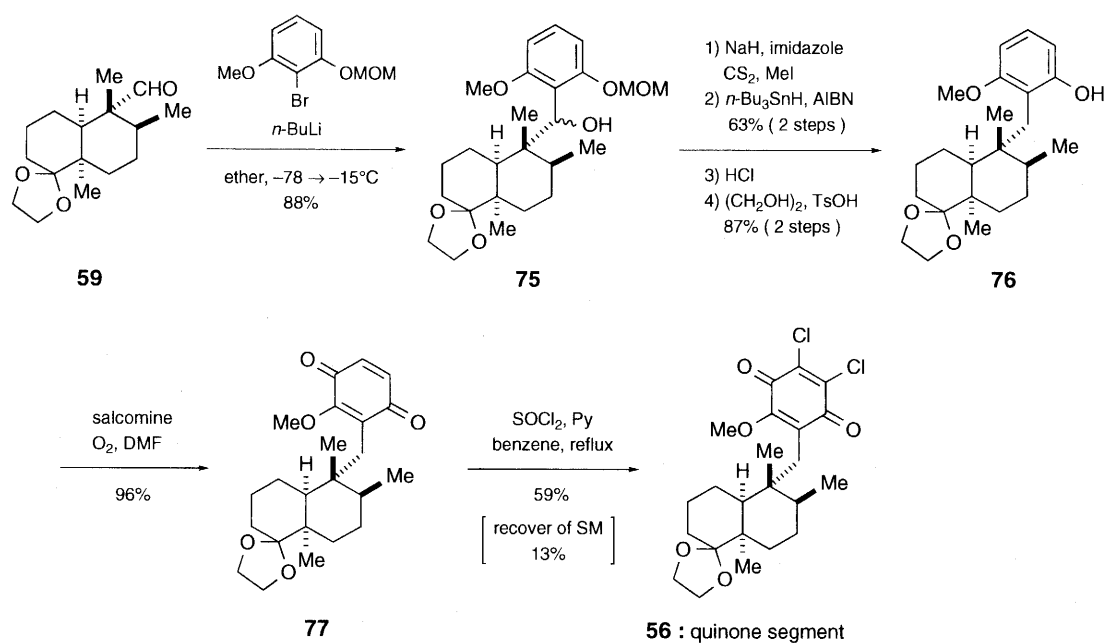


Chart 12. Synthesis of the quinone segment 56

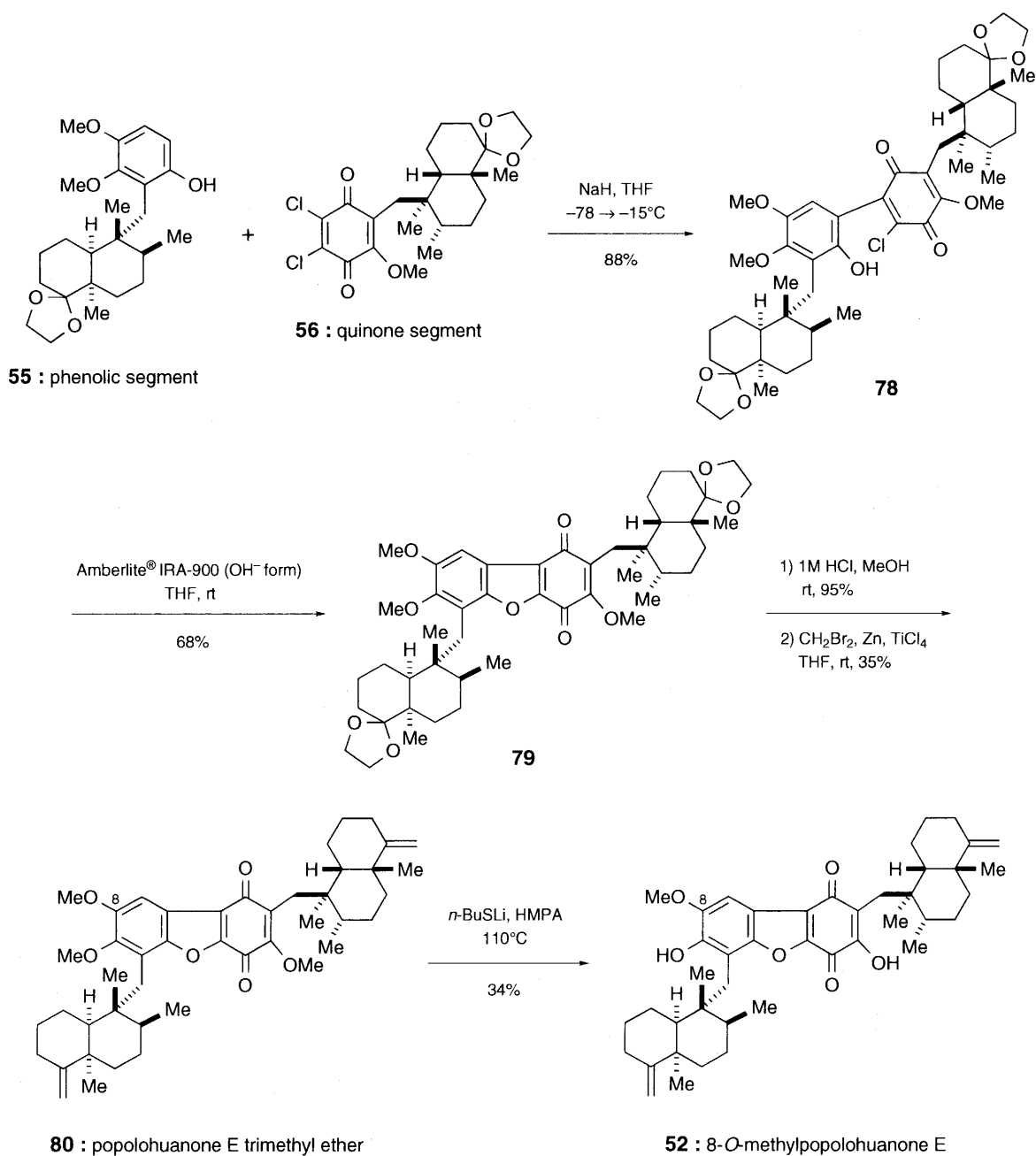


Chart 13. Completion of the total synthesis of 8-O-methylpopolohuanone E (52)

#### 4. アセチルコリンエステラーゼ阻害物質フベルジン A の合成

フベルジン A (5) は、中国の伝承薬であるヒカゲノカズラ科の植物 [*Huperzia serrata* (Thunb.)] から抽出されたりコポジウムアルカロイドであり、その構造は1986年に Liu らによって決定された<sup>26)</sup>。フベルジン A は強力かつ選択的なアセチルコリンエステラーゼ (AchE) 阻

害活性を有することから、老人性痴呆症であるアルツハイマー病治療薬として注目されている<sup>27)</sup>。フベルジン A のラセミ体での全合成は、Qian ら<sup>28)</sup> (1989年) および Kozikowski ら<sup>29,30)</sup> (1989年, 1993年) によって報告されている。また、光学活性 (-)-フベルジン A (5) の不斉合成は、不斉補助基として (-)-8-フェニルメントールを化学量論量使用する方法により達成されている<sup>31)</sup>



(Kozikowski ら, 1991年).

著者らは、フペルジン A (5) の特異な化学構造と顕著な薬理活性に興味をもち、1) 光学活性 5 の効率的な不斉合成法を開発すること、2) より優れた体内動態が期待される 5 の新規含フッ素類縁体を合成すること、3) 5 の構造活性相関に関する新たな知見を得ること、などを目的として合成研究を行った<sup>32-38</sup>).

#### 4.1. 光学活性フペルジン A (5) の触媒的不斉合成法の開発

光学活性フペルジン A (5) の合成法を開発するにあたり、Kozikowski らのラセミ体 5 の合成法を不斉バージョンへと展開することとした。まず始めに、光学活性塩基を共存させた  $\beta$ -ケトエステル 81 とメタアクロレイン 82 との連続不斉ミカエル反応/分子内アルドール反応を機軸と

する三環性化合物 84 の不斉合成法の検討を行った (path A, Chart 14)。その結果、光学活性塩基として (-)-シンコニジン (83) を用いた場合、不斉収率 64% ee (化学収率 45%) で三環性化合物 84 が得られることを見いだした。なお、84 は最大四種類のジアステレオマー混合物となるため、その光学純度はオレフィン体 85 に誘導して決定した。64% ee の 85 は再結晶により、光学的に純粋な 85 (>99% ee, HPLC) とすることができた。

次に、光学活性ビスホスフィンを不斉配位子とする  $\pi$ -アリルパラジウム錯体の  $\beta$ -ケトエステル 81 に対する、不斉アリル化反応を機軸とする三環性化合物 87 の不斉合成法の検討を行った (path B)。その結果、フェロセニルホスフィン誘導体 (R)-(S)-86 を配位子として用いた

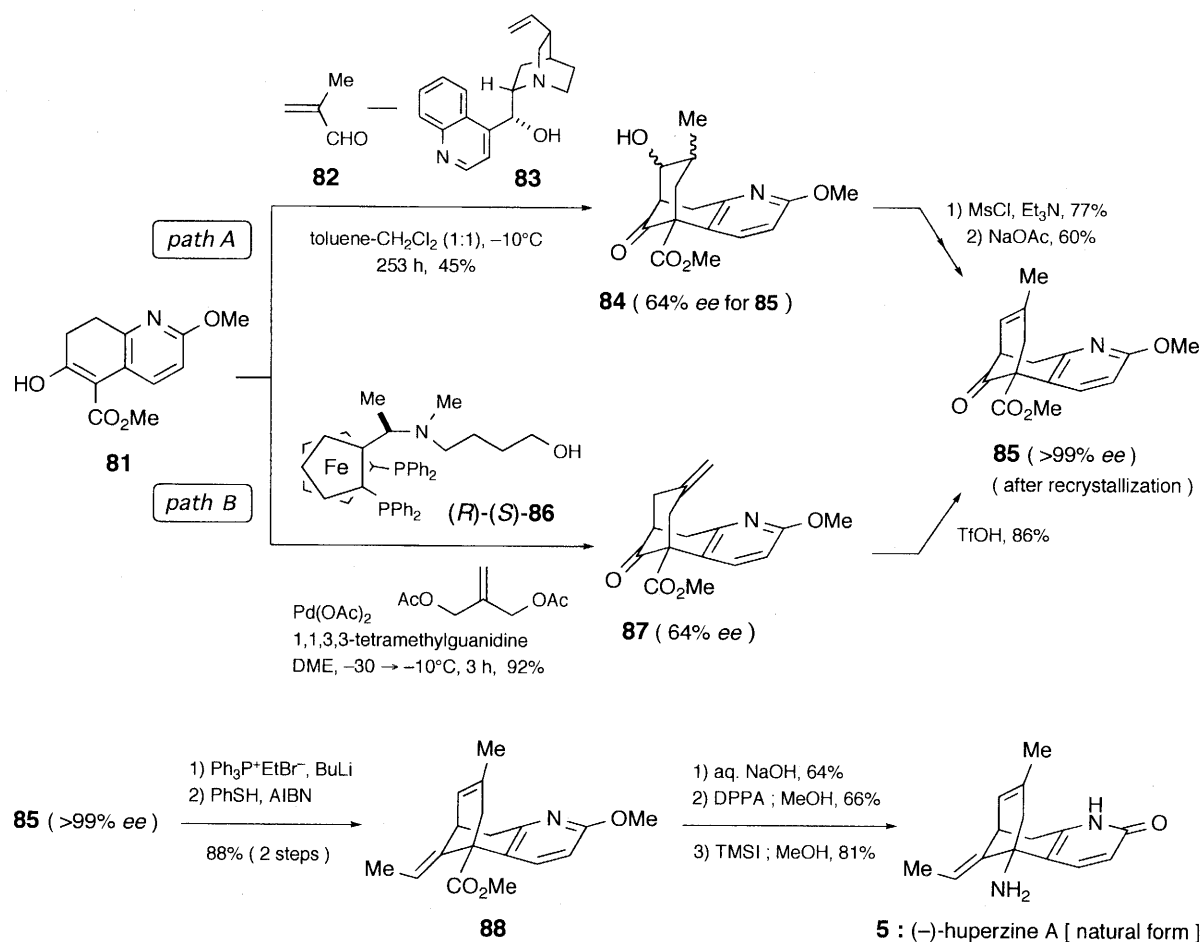


Chart 14. Asymmetric synthesis of (-)-huperzine A (5)

場合, **87** を 64% *ee* (化学収率 92%) で得ることができた. 本化合物は, 二重結合の異性化を行い **85** に誘導し, 先と同様に再結晶により光学的に純粋な **85** (>99% *ee*) とした.

以上のようにして得られた **85** (>99% *ee*) は, 既知の方法に準じて, 化合物 **88** を経て天然型 (-)-フペルジン A (**5**) へと変換した. また, 非天然型 (+)-フペルジン A (*ent*-**5**) は, (-)-シンコニン (**83**) の代りにその擬対掌体である (+)-シンコニンを用いることにより, また, (*R*)-(*S*)-**86** の代りにその対掌体である (*S*)-(*R*)-**86** を用いることにより, 同様にしてそれぞれ得た *ent*-**85** (>99% *ee*) から *ent*-**88** を経て合成した.

#### 4.2. 含フッ素フペルジン A 類縁体 **89-92** の合成とアセチルコリンエステラーゼ阻害活性

フペルジン A (**5**) の類縁体を設計するにあたり, 既に報告されている関連化合物の構造活性相関から, 三次元的分子構造の類似性がきわめて重要であることが推測された. また, 脂溶性の向上を計ることで血液脳関門の透過性や標的部への長期滞在といった薬理学的効果の改善を狙い, 新規含フッ素類縁体の設計, 合成, アセチルコリンエステラーゼ (AChE) 阻害活性試験を行った. これまでに数多くのフペルジン A 類縁体の合成は報告されているが, 含フッ素類縁体の合成に関する報告はまったくない. 従って, 含フッ素フペルジン A 類縁体の合成は, フペルジン A の構造活性相関に関する新たな知見を得ることができると考えた. 含フッ素類縁体としては, Chart 15 に示すように **5** の 7 位および/または 13 位のメチル基をトリフルオロメチ

ル基に置き換えた (±)-12,12,12-トリフルオロフペルジン A (**89**), (±)-14,14,14-トリフルオロフペルジン A (**90**) および (±)-12,12,12,14,14,14-ヘキサフルオロフペルジン A (**91**) を選定した. なお, セクション 4.1. で合成した非天然型フペルジン A (*ent*-**5**) の AChE 阻害活性は, 天然型フペルジン A (**5**) に較べて 2000 分の 1 の活性しか有していないことが明らかになったので (表 1 参照), 合成はすべてラセミ体で行った. 紙面の都合上, 合成法の詳細については割愛するが, トリフルオロメチル基の導入は, トリフルオロメチルトリメチルシラン (TMSCF<sub>3</sub>, Ruppert 試薬) をケトンあるいはアルデヒドに対して反応させることにより行った.

トリフルオロメチル基を有する三種類の類縁体 **89-91** の AChE 阻害活性試験の結果 (表 1 参照) から, **89** が一番強い阻害活性を示したので, C-7 位にモノフルオロメチル基を有する (±)-12-フルオロフペルジン A (**92**) の合成も行った. **92** の合成は, 反応工程の最終段階で C-7 位のヒドロキシメチル基をジエチルアミノ硫黄トリフルオリド (DAST) でフッ素化して行った.

合成した天然型 (-)-フペルジン A (**5**), 非天然型 (+)-フペルジン A (*ent*-**5**) および含フッ素類縁体 **89-92** のアセチルコリンエステラーゼ (AChE) およびブチリルコリンエステラーゼ (BuChE) に対する阻害活性を測定した. その結果を表 1 に示した. 含フッ素類縁体 **89-92** の AChE に対する阻害活性は, **5** に較べると劣るもののいずれも AChE に対して選択的な阻害活性を示した. **89** の方が **90** よりも活性が強いことから, C-13 位メチル基のトリフルオロメチル基

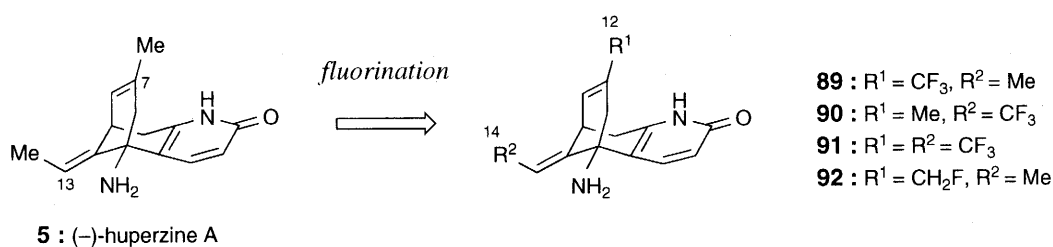


Chart 15. Design and synthesis of the fluorinated huperzine A analogues **89-92**

への置換の方が、7位メチル基の置換よりも活性の低下に大きな影響をおよぼすことが判明した。7位メチル基をモノフルオロメチル基に置換した **92** は、一連の合成した含フッ素類縁体の中で最も良好な活性を示した。**89** および **92** の活性は、それらがラセミ体であることを考慮すると、それぞれ天然型(-)-フペルジンA (**5**) の40分の1および20分の1である。このことは、C-7位メチル基による疎水的相互作用に加え、C-7位の二重結合の電子密度も活性発現に重要な役割を果たしていると考えられる。以上のことより、フペルジンA (**5**) のC-7位および/またはC-13位のメチル基をトリフルオロメチル基に置き換えた場合、AChE 阻害活性がどのように変化するかを明確にすることができた。

Table 1. Inhibitory activity against acetylcholinesterase (AChE) and butyrylcholinesterase (BuChE)

| Compound  | IC <sub>50</sub> value ( $\mu$ M) |       |
|---|-----------------------------------|-------|
|   | AChE                              | BuChE |
| natural (-)-huperzine A ( <b>5</b> )                | 0.005                             | > 50  |
| unnatural (+)-huperzine A ( <i>ent</i> - <b>5</b> ) | 10                                |       |
| -----   |                                   |       |
| ( $\pm$ )- <b>89</b>                                | 0.4                               | > 50  |
| ( $\pm$ )- <b>90</b>                                | 2                                 | > 50  |
| ( $\pm$ )- <b>91</b>                                | 3                                 | > 50  |
| ( $\pm$ )- <b>92</b>                                | 0.2                               | > 50  |

## 5. おわりに

重要な薬理活性を有する天然物の合理的かつ効率的な合成法の開発は、医薬品創製における物質供給という観点から重要な研究課題の一つである。さらに、ポストゲノム時代を迎え、今後、次々に病気の原因となる遺伝子やその遺伝子産物であるタンパク質が発見され、そのタンパク質の機能を制御する低分子リガンドが医薬品候補化合物になる可能性は大きい。今後著者は、有機合成化学をベースとして、このような疾病治療を目的とした生体機能解明に貢献できるような学術研究を行うべく努力したいと考えている。

## REFERENCES

- Katoh T., *Yuki Gosei Kagaku Kyokaishi*, **59**, 456-457 (2001).
- Katoh T., *Kagaku*, **58**, 56-57 (2003).
- Katoh T., Terashima S., *Yuki Gosei Kagaku Kyokaishi*, **52**, 556-957 (1994).
- Katoh T., Terashima S., *J. Synth. Org. Chem., Jpn.*, **55**, 946-957 (1997).
- Katoh T., Terashima S., *Studies in Natural Products Chemistry, Vol. 19*, ed. by Atta-ur-Rahman, Elsevier, Amsterdam, 289-350 (1997).
- Katoh T., *Yuki Gosei Kagaku Kyokaishi*, **57**, 736-748 (1999).
- Katoh T., *J. Pept. Sci.*, **25**, 446-450 (2000).
- Katoh T., *My Favorite Organic Synthesis*, ed. by The Society of Synthetic Organic Chemistry, Japan. Kagaku-Dojin Publishing Co., Inc. Kyoto, 62-63 (2002).
- Katoh T., Terashima S., *Latest Frontiers of Organic Synthesis*, ed. by Y. Kobayashi, Research Signpost, Kerala, INDIA, 255-288 (2002).
- Tanaka M., Nara F., Suzuki-Konagai K., Hosoya T., Ogita T., *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 7871-1872 (1997).
- Izuhara T., Katoh T., *Tetrahedron Lett.*, **41**, 7651-7655 (2001).
- Izuhara T., Katoh T., *Org. Lett.*, **3**, 1653-1656 (2001).
- Izuhara T., Yokota W., Inoue M., Katoh T., *Heterocycles*, **56**, 553-560 (2002).
- Katoh T., Izuhara T., Yokota W., Inoue M., Watanabe K., Suzuki T., *Tetrahedron*, **62**, 1590-1608 (2006).
- Inoue M., Yokota W., Muruges M. G., Izuhara T., Katoh T., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **43**, 4207-4209 (2004).
- Ayyad S. -E. N., Judd A. S., Shier W. T., Hoye T. R., *J. Org. Chem.*, **63**, 8102-8106 (1998).
- Mehta G., Islam K., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **41**, 2396-2398 (2002).
- Araki H., Inoue M., Katoh T., *Org. Lett.*, **5**, 3903-

- 3906 (2003).
- 19) Araki H., Inoue M., Katoh T., *Synlett*, 2401-2403 (2003).
- 20) Carney J. R., Scheuer P. J., *Tetrahedron Lett.*, **34**, 3727-3730 (1993).
- 21) Ueki Y., Itoh M., Katoh T., Terashima, S., *Tetrahedron Lett.*, **37**, 5719-5722 (1996).
- 22) Kawano H., Itoh M., Katoh T., Terashima S., *Tetrahedron Lett.*, **38**, 7769-7772 (1997).
- 23) Katoh T., Nakatani M., Shikita S., Sampe R., Ishiwata A., Ohmori O., Nakamura M., Terashima S. *Org. Lett.*, **3**, 2701-2704 (2003).
- 24) Anderson, J. C., Pearson, D. J., *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*, 2023-2029 (1974).
- 25) Anderson J. C., Denton R. M., Wilson C., *Org. Lett.*, **7**, 123-125 (2005).
- 26) Liu J. -S., Zhu Y. -L., Yu C. -M., Zhou Y. -Z., Han Y. -Y., Wu F. -W., Qi B. -F., *Can. J. Chem.*, **64**, 837-841 (1986).
- 27) Kozikowski A. P., Miller C. P., Yamada F., Pang Y. P., Miller J. H., McKinney M., Ball R. G., *J. Med. Chem.*, **34**, 3399-3402 (1991).
- 28) Qian L., Ji R., *Tetrahedron Lett.*, **30**, 2089-2092 (1989).
- 29) Xia Y., Kozikowski A. P., *J. Am. Chem. Soc.*, **111**, 4116-4117 (1989).
- 30) Campiani G., Sun L. -Q., Kozikowski A. P., Aagaard P., Mckinney M., *J. Org. Chem.*, **58**, 7660-7666 (1993).
- 31) Yamada F., Kozikowski A. P., Reddy E. R., Pang Y. -P., Miller J. H., McKinney M., *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4695-4696 (1991).
- 32) Kaneko S., Nakajima N., Shikano M., Katoh T., Terashima S., *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **6**, 1927-1930 (1996).
- 33) Kaneko S., Nakajima N., Katoh T., Terashima S., *Chem. Pharm. Bull.*, **45**, 43-47 (1997).
- 34) Kaneko S., Yoshino T., Katoh T., Terashima S., *Tetrahedron : Asymmetry*, **8**, 828-832 (1997).
- 35) Kaneko S., Shikano M., Katoh T., Terashima S., *Synlett*, 447-448 (1997).
- 36) Kaneko S., Yoshino T., Katoh T., Terashima S., *Heterocycles*, **46**, 27-30 (1997).
- 37) Kaneko S., Yoshino T., Katoh T., Terashima S., *Tetrahedron*, **54**, 5471-5484 (1997).
- 38) Kaneko S., Nakajima N., Shikano M., Katoh T., Terashima S., *Tetrahedron*, **54**, 5485-5506 (1998).