

- |                 |   |
|-----------------|---|
| 1. 課程・論文博士の別    | 論文博士  |
| 2. 申請者氏名 (ふりがな) | 中村昌幸 (なかむら まさゆき)                              |
| 3. 学位の種類        | 博士 (薬学)                                       |
| 4. 学位記番号        | 博薬 第 15861 号                                  |
| 5. 学位授与年月日      | 平成 16年 1月14日                                  |
| 6. 論文題目         | 有機化学的手法に基づくスフィンゴ脂質代謝阻害剤の研究                    |
| 7.              | 希望しない   |
| 8. 提出ファイルの仕様等   | 中村昌幸論文要旨.pdf      Adobe Acrobat      Mac OS X |

## 有機化学的手法に基づくスフィンゴ脂質代謝阻害剤の研究

中村昌幸

スフィンゴ脂質は、膜脂質の主要なグループであり、長年その機能が不明であった。近年、その分解代謝産物が細胞内の伝達物質に関与していることなど重要機能分子であることが明らかとされ注目を集めている。有機化学の立場からスフィンゴ脂質の生体機能解明に向けてのアプローチとして、脂質の効率的な合成法の確立、強力な酵素阻害剤の創製などが行われている。

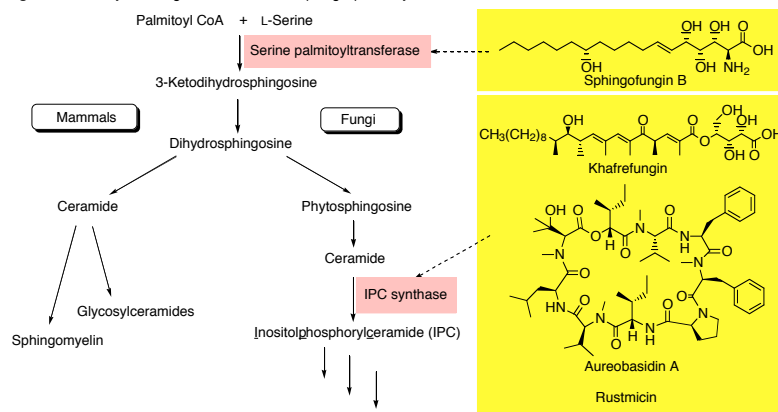
そこで筆者は、有機化学的手法を用いて、1) IPC 合成酵素阻害剤 *khafrefungin* の大量供給を目指した全合成と構造活性相関に関する研究、2) 新規な有用物質創製のための不斉反応の開発、特に *sphingofungin* 類を合成する際、有力な手法となる触媒的不斉向山アルドール反応を鍵とする光学活性 $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸の合成法の開発を行った。

1) IPC 合成酵素阻害剤 *khafrefungin* の全合成及び誘導体合成

*Khafrefungin* は 1997 年、Merck グループより単離された抗真菌剤であり、スフィンゴ脂質の生合成経路(Figure 1)において、真菌のみに存在する Inositolphosphorylceramide(IPC)合成酵素を特異的に阻害することから、創薬の見地からも有望なリード化合物である。Merck グループは *khafrefungin*

の平面構造のみを提出したが、筆者らのグループは、その絶対立体配置を決定し、初の全合成を達成した。一方、同じ IPC 合成酵素阻害剤 *aureobasidin A*(AbA)は宝酒造(株)によって単離され、環状デプシペプチドであることからこれまで多くの合成及び生物学的研究がなされてきた。一連の研究から、真菌の AbA 耐性変異株から単離された *AURI* 遺伝子は IPC 合成酵素をコードしていることが明らかとなり、今回、筆者らの合成した *khafrefungin* を用いて生物活性試験を行った結果、*khafrefungin* も同様に AbA 耐性菌に対して抗真菌活性を示さず耐性であることが分かった。この結果から、両者は一見すると全く異なる分子構造を有しているにも関わらず、分子レベルでは IPC 酵素中、同じアミノ酸部位を認識している可能性が示唆された。この興味深い結果の詳細をさらに解明するためには、*khafrefungin* の構造活性相関の研究、*khafrefungin* を用いての生物学的、遺伝学的研究などが必要となる。しかしながら *khafrefungin* は天然から極微量しか得ることができず、また最初の全合成は立体化学の決定が主目的のため、量的供給には問題を残していた。そこで筆者は、誘導体合成を視野に入れた *khafrefungin* の大量供給を目的とした効率的な全合成研究に着手した。

Figure1. Pathways for fungal and mammalian sphingolipid biosynthesis and natural inhibitors.



*khafrefungin* を用いて生物活性試験を行った結果、*khafrefungin* も同様に AbA 耐性菌に対して抗真菌活性を示さず耐性であることが分かった。この結果から、両者は一見すると全く異なる分子構造を有しているにも関わらず、分子レベルでは IPC 酵素中、同じアミノ酸部位を認識している可能性が示唆された。この興味深い結果の詳細をさらに解明するためには、*khafrefungin* の構造活性相関の研究、*khafrefungin* を用いての生物学的、遺伝学的研究などが必要となる。しかしながら *khafrefungin* は天然から極微量しか得ることができず、また最初の全合成は立体化学の決定が主目的のため、量的供給には問題を残していた。そこで筆者は、誘導体合成を視野に入れた *khafrefungin* の大量供給を目的とした効率的な全合成研究に着手した。

まず、逆合成解析として、khafrefungin を三つのフラグメントに切断した(Scheme 1)。フラグメント C(5)はアラビノースから四段階の反応で容易に合成できることから、フラグメント B(4)とC(5)をカップリングさせた後、工程数が長いフラグメント A(2)を結合させることにした。

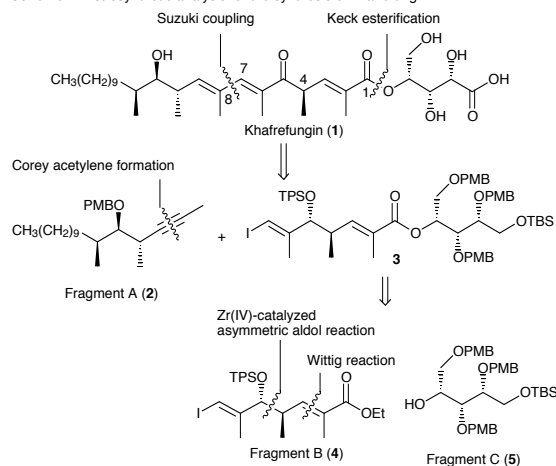
フラグメント A(2)の合成に関しては、市販品である化合物 6 から五段階の反応を行うことにより 7 を合成した(Scheme 2)。次いで、三連続不斉中心の構築は先の全合成ルートに従い合成して、得られた 8 から Corey らの手法を用いて、フラグメント A(2)を 13.9 g 得ることができた。

フラグメント B(4)の合成は、既に筆者らのグループによって開発された、光学活性ジルコニウム錯体を用いる高アンチ選択的触媒的不斉向山アルドール反応を用いて C4 位の不斉炭素の構築を行い、アルデヒド 9 にケテンシリルアセタール 10 を作用させたところ、高いジアステレオ、エナンチオ選択性をもって付加体 11 を 13.2 g 得た(Scheme 3)。次いで 11 から七段階の反応によって、良好な収率をもってフラグメント B(4) 9.3 g へと変換することができた。さらに、Keck のエステル化条件下、12 とフラグメント C(5)を、高収率をもって縮合することができた。

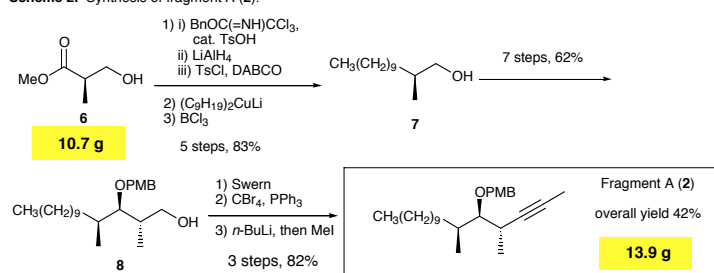
続いて、C7 位と C8 位の鈴木カップリング反応について、操作性、毒性を考慮して条件検討を行った結果、ワンポット鈴木カップリング反応が円滑に進行することを見出した(Scheme 4)。カップリング体 14 3.0 g から定法に従い、khafrefungin を 200 mg 合成し、大量供給が可能な効率的な全合成を達成した(Scheme 4)。

合成した khafrefungin を用いて各種評価を行った。万有製薬つくば研究所薬物動態グループで代謝実験を行った結果、代謝部位は主に、エステル部の切断と脂肪鎖の水酸化であることが分かった。また、合成した khafrefungin を用いて詳細に NMR 実験を行った結果、C4 位と C7 位のプロトン間に強い NOE が観測され、C4 位において折れ曲がり構造を有していることが示唆された。

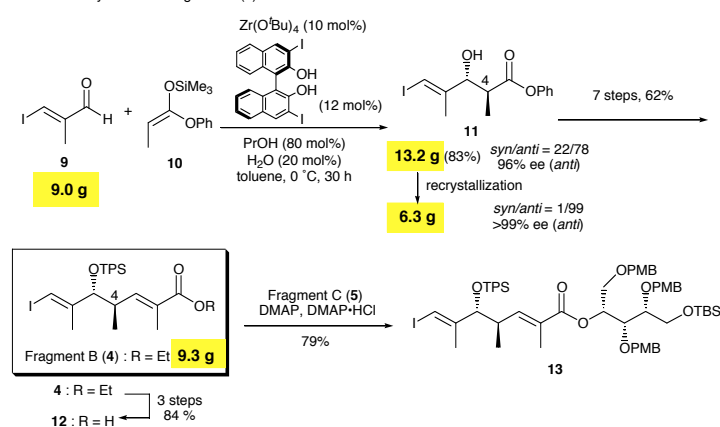
Scheme 1. Retrosynthetic analysis for the synthesis of khafrefungin.



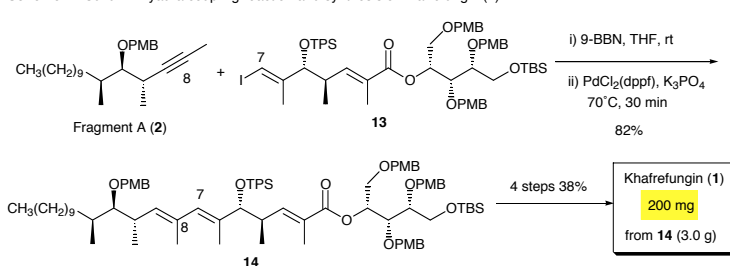
Scheme 2. Synthesis of fragment A (2).



Scheme 3. Synthesis of fragment B (4) and 13.



Scheme 4. Suzuki-Miyaura coupling reaction and synthesis of khafrefungin (1).



以上の結果を考慮して、活性と代謝安定性の向上、並びに特徴的な折れ曲がり構造の働きを明らかにするため、誘導体をデザイン、合成し、構造活性相関に関する知見を得た。すなわち、合成した *khafrefungin* から誘導した六員環ラク톤は、同程度の活性を示した。この結果から、生体内では二つの構造が平衡状態で存在しているものと考えられる。次に、折れ曲がり構造を基にした誘導体は、活性が消失することが分かった。一方、エステル部を含めたアルドン酸部は、僅かな構造変換で活性が消失したことから、抗真菌活性には非常に敏感であることが明らかとなった。

## 2) キラルジルコニウム触媒を用いる光学活性アミノ酸誘導体の不斉合成

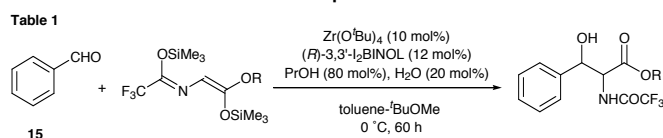
$\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸は *vancomycin* や *sphingofungin* 類など天然生理活性物質に多くみられる構造であり、また、創薬化学においても異常アミノ酸の一つとして、有用なビルディングブロックである。*Sphingofungin B* は、アンチ- $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸構造を特徴とする天然物である。このような連続する不斉中心の構築は、有機合成上、重要な課題の一つであり、スフィンゴ脂質の分子レベルの機能解明だけでなく、様々な生理活性物質の合成においても有効かつ効果的な手法を与える。

$\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸は、構造上の特徴から、アルデヒドとグリシン誘導体のアルドール反応が最も効率的な合成手法の一つであり、近年、触媒的不斉アルドール反応に関する研究が盛んに行われ、光学活性なアミノ酸の合成が報告されるようになった。しかしながら選択性、基質一般性や誘導体への変換等に課題があり、有用かつ実用的な反応開発が望まれていた。

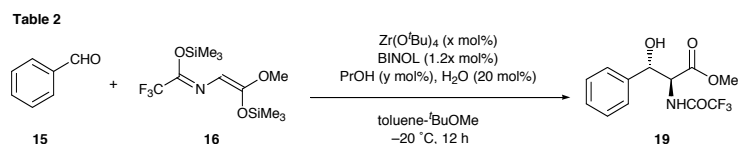
一方、筆者らの研究室では最近、キラルジルコニウム触媒存在下、プロピオン酸由来のケテンシリルアセタールにアルデヒドを作用させると、アンチ選択的に反応が進行し、高いエナンチオ選択性を持って目的とするアルドール体が得られることを見出している。そこで筆者は、この触媒を用いて、*sphingofungin B* や他の有用化合物へと誘導可能なアンチ- $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸を不斉合成する研究に着手した。

まず、グリシン由来のケテンシリルアセタールについて検討を行った。その結果、Simchen らにより報告されている、アミノ基がトリフルオロアセチル基で保護された **16** が、キラルジルコニウム触媒下、良好な収率、中程度のジアステレオ、エナンチオ選択性をもってシニアルドール付加体を与えることを見出した(Table 1)。

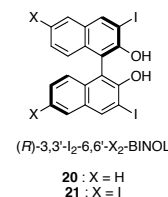
触媒量、添加剤を検討した結果、アンチ付加体が優先的かつ高いエナンチオ選択性で得られることが分かった(Table 2)。より活性の高い(*R*)-3,3',6,6'-I<sub>4</sub>BINOL を用いて反応を行ったところ、20 mol%の触媒を用いることによって、高アンチ選択性、高エナンチオ選択性を



Entry	OR	Yield (%)	Syn/Anti	Ee (%) (Syn/Anti)
1	OMe ( <b>16</b> )	80	71/29	63/23
2	OEt ( <b>17</b> )	23	53/47	10/11
3	OPh ( <b>18</b> )	trace	-	-



Entry	x	BINOL	y	Yield (%)	Syn/Anti	Ee (%) (Syn/Anti)
1	10	( <i>R</i> )-3,3'-I <sub>2</sub> BINOL <b>20</b>	80	74	73/27	62/15
2	10	( <i>R</i> )-3,3'-I <sub>2</sub> BINOL <b>20</b>	160	50	45/55	52/75
3	20	( <i>R</i> )-3,3'-I <sub>2</sub> BINOL <b>20</b>	160	95	31/69	67/88
4	20	( <i>R</i> )-3,3'-I <sub>2</sub> BINOL <b>20</b>	300	94	14/86	74/92
5	20	( <i>R</i> )-3,3',6,6'-I <sub>4</sub> BINOL <b>21</b>	300	96	11/89	48/93
6 <sup>a)</sup>	20	( <i>R</i> )-3,3',6,6'-I <sub>4</sub> BINOL <b>21</b>	300	83	9/91	38/93
7	0	-	-	33	29/71	-/-



a) The reaction was performed at -40 °C.

もってアルドール付加体を得ることができた。しかしながら条件検討の過程において、無触媒でも反応が進行することが明らかとなった。そこで触媒が効率的に作用する反応条件を探索するため、さらに最適化を行った。その結果、10 mol%の触媒存在下、**16** を反応液中へ *slow addition* すると、アンチ選択性、エナンチオ選択性が共に向上することが分かった(Table 3)。PrOH を 300 mol%、**16** を八時間かけて反応液に加えることにより、高アンチ選択性、高エナンチオ選択性をもってアルドール付加体を得ることができた(entry 5)。

本反応は、様々な芳香族アルデヒドに対して、高収率、高エナンチオ選択性をもって進行した(Table 4)。さらに、種々の化合物へと変換可能なアルデヒド **29**, **30** に対しても、高いエナンチオ選択性をもって反応が進行することが分かった。特に、**30** を用いた際の生成物は、*spingofungin B* に見られる部分構造であり、天然物や他の誘導体合成の重要な鍵中間体である。

以上、筆者は、有機化学的手法によりスフィンゴ脂質代謝阻害剤の研究を行い、1) *khafrefungin* の大量合成を指向した効率的な全合成を達成し、各フラグメントのマルチグラム合成および、*khafrefungin* の大量供給ルートの確立を行った。さらに合成した *khafrefungin* を用いて各種評価を行い、構造活性相関に関する研究も行った。2) 筆者らの研究室で開発されたキラルジルコニウム触媒を用いる触媒的不斉向山アルドール反応によって、アンチ- $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸の立体選択的合成を行った。その結果、アミノ基がトリフルオロアセチル基で保護されたケテンシリルアセタールを反応液中へ *slow addition* することにより、高収率、高エナンチオ選択性でアンチ- $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸を得ることができた。本反応を用いることにより、*spingofungin* 類の合成やビルディングブロックとしての異常アミノ酸の合成が可能であり、さらなる研究の発展が期待できる。

Table 3

Entry	x	Slow addition of the ketene silyl acetal (h)	Yield (%)	Syn/Anti	Ee (%) (Anti)
1	150	0	74	42/58	32
2	150	1	97	28/72	71
3	150	4	92	25/75	77
4	150	8	93	22/78	87
5	300	8	92	10/90	95
6	300	20	89	14/86	91

Table 4

Aldehyde	Yield (%)	Syn/Anti	Ee (%) (Anti)
	22: X = Me 87	15/85	94
	23: X = Cl 91	16/84	94
	24: X = Me 83	9/91	93
	25: X = Cl 93	8/92	96
	26: X = OMe 93	9/91	95
	27 71	13/87	90

Aldehyde	Yield (%)	Syn/Anti	Ee (%) (Anti)
	76	20/80	85
	81	22/78	85
	85 <sup>a)</sup>	20/80	95

a) Ketene silyl acetal (**16**) (2.0 equiv) was used.