

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 29 年 5 月 26 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2016

課題番号：15K14928

研究課題名(和文)天然・人工リアノイド群の網羅的全合成法の開発および新機能分子の創製と応用

研究課題名(英文)Unified total synthesis and biological evaluation of natural and artificial ryanoids

研究代表者

井上 将行 (Inoue, Masayuki)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・教授

研究者番号：70322998

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：生命現象の根幹をなすイオンチャネルの機能不全は、多くの疾患を引き起こす。そのため、チャネルに作用する医薬品の合理的な開発は、現代科学における緊急課題である。リアノジンは、カルシウムイオン放出チャネルであるリアノジン受容体を強力に活性化する。本研究は、リアノジンの構造と機能をモチーフとした、天然・人工リアノイドの網羅的全合成・活性評価を目標とした。その結果、リアノジンを含む6つの天然リアノイドの網羅的全合成を達成した。さらに、合成分子群の機能解析と活性発現要件の解明に必要なリアノイドの量的供給、および蛍光標識化したリアノジンの合成調達に成功した。

研究成果の概要(英文)：Dysfunction of ion channels leads to various diseases. Rational development of pharmaceuticals that modulate functions of ion channels is an urgent task in modern science. Ryanodine receptors are calcium ion release channels, and are selectively activated by ryanodine. Our study aimed at unified total synthesis and biological evaluation of ryanodine, natural and artificial ryanoids. In this study, we developed a new strategy for assembly of the architecturally complex structure of ryanodine, and achieved unified total synthesis of ryanodine and five other natural ryanoids. Our practical syntheses enabled us to prepare the ryanoids for detailed investigation of their various biological functions. Moreover, the fluorescent labeled ryanodine was prepared for investigation of the molecular interaction between the synthetic molecules and ryanodine receptors.

研究分野：天然物合成化学・生物有機化学

キーワード：合成化学 全合成 生物活性分子の設計 生理活性 イオンチャネル リアノジン リアノジンレセプター

## 1. 研究開始当初の背景

生命現象の根幹をなすイオンチャネルの機能不全は、多くの疾患を引き起こす。そのため、チャネルに作用する医薬品の合理的な開発は、現代科学における緊急課題である。酸素官能基が密集した天然物は、一般的な医薬品や天然物では実現不可能な、チャネルの高選択的阻害・活性化を可能にする。

リアノジン受容体(RyR)は、5000個のアミノ酸からなり、分子量200万を超える巨大なCa<sup>2+</sup>放出チャネルである。RyRには3つのサブタイプ(RyR1-3)が存在し、これらが骨格筋・心筋・平滑筋・脳の小胞体に異なる割合で散在することにより、Ca<sup>2+</sup>シグナルが精密に制御される。RyR欠損マウスでは、心臓停止・脳障害・運動障害など、様々な疾患が起こるため、その役割は極めて重要であるが、サブタイプ個々の詳細な機能については明らかにされていない。既に、RyRに作用する医薬品としてダントロレンが悪性高熱症の治療薬として使用されている。しかし、一般にこれら医薬品は、サブタイプ選択性が低く、副作用の軽減や特定のRyRの精密な機能制御には、大きな課題が残っている。

## 2. 研究の目的

本研究は、強力にRyRに作用するリアノジン(1, 図1)の構造と機能をモチーフとした、天然・人工リアノイドの網羅的全合成・活性評価までを目的とした。研究期間内に実現すべき項目として、(1)天然リアノイドの網羅的全合成および(2)人工リアノイドの網羅的全合成を設定した。長期的には、(3)合成分子群の機能解析と活性発現要件の解明を目標とし、生物学的プローブや医薬品として応用可能な、天然物を凌駕する薬理活性およびRyRサブタイプ選択性を有する分子群を創製する。

## 3. 研究の方法

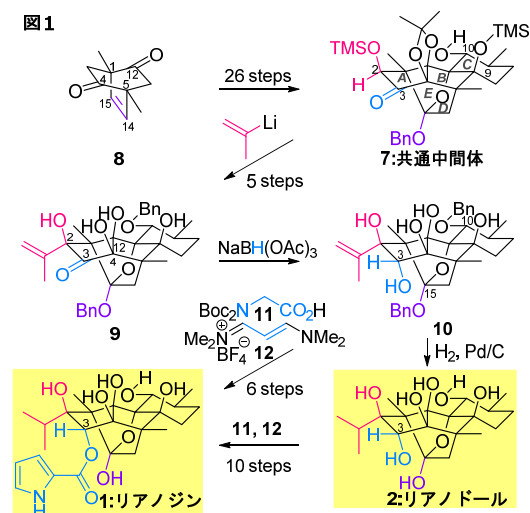
リアノジン(1)は1-H-ピロールカルボン酸エステルとジテルペン構造(2:リアノドール)によって構成される。2は複雑に縮環した5環性骨格(ABCDE環)上に、6つのヒドロキシ基およびヘミアセタールを有し、8つの四置換炭素を含む11連続した不斉中心が存在する。1に代表される類縁化合物(リアノイド: 1-6, 図2)は、共通の炭素骨格を有するが、

C1, 2, 3, 15, 18位の酸化度および結合様式が異なる。そのため、それらの生物活性も、チャネル開閉制御(1)、殺虫(2-4)、抗補体(4-6)、免疫抑制(6)と多岐に渡る。

従来は、同じ分子骨格に対して官能基の置換パターンが異なる場合は、まったく別の合成ルートの開発が必要だった。我々の新合成戦略では、天然・人工リアノイドの網羅的全合成を可能とする。すなわち、最近全合成を達成した2の合成ルート(図1)を創造的に応用し、1-5のC2, 3位の置換基を除く全ての炭素骨格ならびに酸素官能基を有する5環性化合物7を共通中間体として定めた。続く、C2, 3位選択的官能基変換を鍵としてリアノイド1-5および6を網羅的に全合成する。長期的には、本研究で開発する網羅的全合成法により、今まで人類が手にしたことがない様々な人工類縁体を調製する。天然・人工類縁体に対して、総合的に活性を評価することで、特定のイオンチャネル・サブタイプに対する阻害・活性化に必要な構造要件を原子レベルで明らかにし、天然物に内在する機能を解明する。さらに、構造・機能情報から、天然物を凌駕する高活性・高サブタイプ選択性を有する人工リアノイドの開発につなげ、RyRの新しい制御を可能にする。

## 4. 研究成果

### (1)天然リアノイドの網羅的全合成

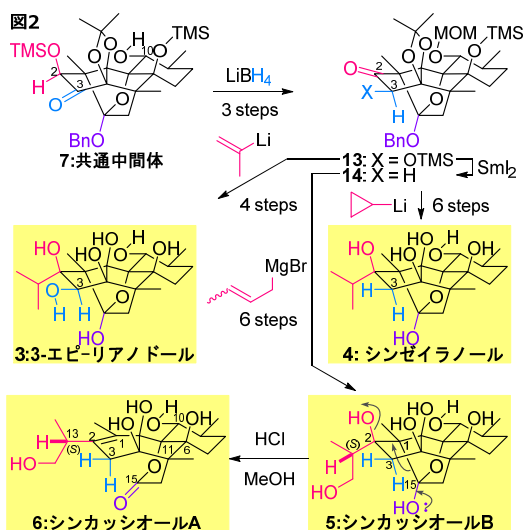


立体化学制御因子としてAB環上を覆う高いアセトニド基を利用し、C2, 3位立体選択的官能基化による共通中間体7からのリアノイド1-6の統一的全合成を達成した。まず、リアノジン(1)の合成について述べる(図1)。7からC2位への立体選択的イソプロペニル基

導入を含む5工程で9とした後、ヒドロキシ基の配向を利用したC3位ケトンの立体選択的還元で、10を得た。非常に立体障害の高いC3位への1-*H*-ピロールカルボン酸エステル導入は困難を極めたが、C3位ヒドロキシ基にグリシン保護体11を縮合後、2箇所の求電子部位を有する3炭素ユニット12とのピロール環形成反応に付すことで実現した。このように、共通中間体7から12工程の変換で1の初の全合成を達成した。**本研究成果は学術論文4,5に報告した。**

また、確立したピロールカルボン酸導入法をリアノール(2)に適用し、2からリアノジン(1)への変換を世界で初めて達成した。**本研究成果は学術論文1に報告した。**

次に、3-エピ-リアノール(3)の合成を行った(図2)。7からC3位ケトンの立体選択的還元を経て、13を合成した。13のC2位ケトンへイソプロピル基を立体選択的に付加した後、オレフィン部位の接触水素化とヒドロキシ基の脱保護を経て、3の全合成を達成した。さらに、2および3のスペクトル解析の結果、3が天然物からの単離報告がなされていたリアノールの真の構造であることを明らかにした。



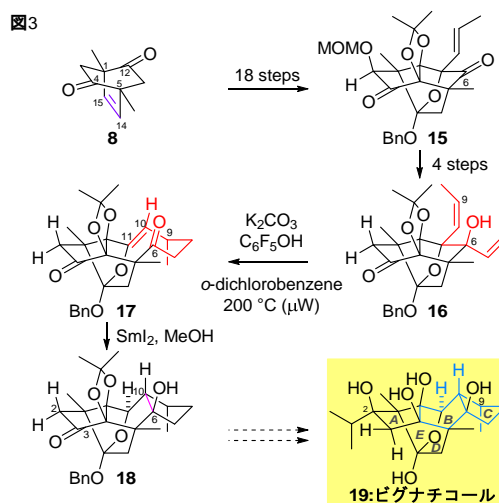
シンゼイラノール(4)の合成は、13のC3位酸素官能基を還元的に除去して14とした後、C2位ケトンへのシクロプロピル基導入、3員環の開環、ヒドロキシ基の脱保護を経て達成した。

最後に、シンカッシオールB(5)およびA(6)の合成を行った。5のC2位ヒドロキシイソプロピル基は、合成等価体としてクロチル基を14のC2位ケトンへ付加した後、生じたオレ

フィン部位をオゾン分解および続くヒドリド還元で付すことで構築した。ヒドロキシ基の脱保護を経て、5の全合成を達成した。さらに、5を酸性条件に晒すとC2位ヒドロキシ基の脱水を伴って、C1-C15結合開裂反応が進行し、6を与えた。さらに、5の合成中間体を結晶性化合物へと誘導後、単結晶X線構造解析により、未決定であった5,6のC13位立体化学を決定した。**本研究成果は学術論文3に報告した。**

## (2)イソリアノイド骨格の構築

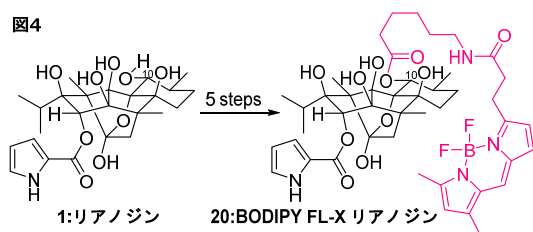
ビグナチコール(19, 図3)に代表されるイソリアノイドは、リアノイドとBCD環部の縮環様式およびC9位メチル基の立体化学が異なる。その複雑な化学構造から、イソリアノイドの全合成はおろか、縮環骨格構築の例は未だ存在しない。我々は19を標的分子として定め、その全合成研究を強力に推進した。その結果、リアノイドの統一的全合成に用いた4環性合成中間体15から6工程の化学変換で、19のC2,3位の官能基を除く全ての酸素官能基と炭素骨格を備えた18の構築に成功した。すなわち、15から4工程で導いた $\alpha$ -オレフィン基を有するジエン16をマイクロ波照射下、200 °Cで加熱するとoxy-Cope転位が進行し、10員環を有するエノール17が得られた。17に対し $\text{SmI}_2$ を作用させると、C6-C10結合生成を伴う渡環反応が進行し、イソリアノダン骨格18を構築できた。



## (3)リアノジン分子プローブの合成

合成した天然・人工類縁体群のRyRに対する機能評価のため、リアノジン(1)を蛍光ラベルしたBODIPY FL-Xリアノジン(20)を合成的に調達した(図4)。

図4



以上のように我々は、新戦略を開発することにより、天然・人工リアノイド類縁体群の網羅的全合成を実現した。また、合成した誘導体群の RyR に対する機能評価のための分子プローブを調製した。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計7件)

学術論文: 5件(全て査読有)

1. K. Masuda, M. Nagatomo, M. Inoue, "Chemical Conversion of Ryanodol to Ryanodine," *Chem. Pharm. Bull.* **2016**, *64*, 874-879.  
DOI:10.1248/cpb.c16-00214
2. D. Kamimura, M. Nagatomo, D. Urabe, M. Inoue, "Expanding the Scope of Et<sub>3</sub>B/O<sub>2</sub>-Mediated Coupling Reactions of O<sub>2</sub>Te-Acetal," *Tetrahedron* **2016**, *72*, 7839-7848.  
DOI: 10.1016/j.tet.2016.04.023
3. M. Koshimizu, M. Nagatomo, M. Inoue, "Unified Total Synthesis of 3-*epi*-Ryanodol, Cinnzeylanol, Cinnassiol A and B, and Structural Revision of Natural Ryanodol and Cinnacasol," *Angew. Chem. Int. Ed.* **2016**, *55*, 2493-2497.  
DOI:10.1002/anie.201511116
4. K. Masuda, M. Koshimizu, M. Nagatomo, M. Inoue, "Asymmetric Total Synthesis of (+)-Ryanodol and (+)-Ryanodine," *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 230-236.  
DOI:10.1002/chem.201503641
5. M. Nagatomo, K. Hagiwara, K. Masuda, M. Koshimizu, T. Kawamata, Y. Matsui, D. Urabe, M. Inoue, "Symmetry-Driven Strategy for the Assembly of the Core Tetracycle of (+)-Ryanodine: Synthetic Utility of a Cobalt-Catalyzed Olefin Oxidation and  $\alpha$ -Alkoxy Bridgehead Radical

Reaction," *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 222-229.

DOI:10.1002/chem.201503640

総説: 計1件

1. M. Inoue, "Evolution of Radical-Based Convergent Strategies for Total Syntheses of Densely Oxygenated Natural Products," *Acc. Chem. Res.* **2017**, *50*, 460-464.  
DOI:10.1021/acs.accounts.6b00475

依頼解説記事: 計1件

1. 長友優典, 井上将行, "リアノジン類の統一的全合成-多様性を志向した共通中間体の設計戦略," *化学* 2016, *71* (4), 47-48.

[学会発表](計23件)

招待講演-国際学会: 計15件

1. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," Cambridge-UTokyo Strategy Partnership Symposium on Chemistry and Chemical Biology, The University of Tokyo, Tokyo, Japan, February 9, 2017.
2. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," The 1<sup>st</sup> PKU-WuXi AppTec Symposium of Organic Chemistry, Peking University, Beijing, China, October 22, 2016.
3. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," ACP Lectureship, Hong Kong University of Science and Technology, Hong Kong, China, May 25, 2016.
4. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," ACP Lectureship, The University of Hong Kong, Hong Kong, China, May 24, 2016.
5. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," ACP Lectureship, Chinese University of Hong Kong, Hong Kong, China, May 23, 2016.
6. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," PACHIFICHEM, Honolulu, Hawaii, USA, December 20, 2015.
7. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products,"

- Cambridge-UTokyo Joint Symposium and Workshops, Cambridge, UK, November 24, 2015.
8. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," 16th Tetrahedron Symposium Asia Edition, Shanghai, China, November 12, 2015.
  9. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," Tokyo-LMU Symposium, LMU, Munich, Germany, October 29, 2015.
  10. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," 6th Japanese-Sino Symposium on Organic Chemistry for Young Chemists, Sendai, Japan, September 8, 2015.
  11. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," Kick-off Symposium on Advanced Research Network for Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia, Sendai, Japan, August 25, 2015.
  12. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," 45th World Chemistry Congress (IUPAC-2015), Busan, Korea, August 10, 2015.
  13. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," 7th Pacific Symposium on Radical Chemistry, Singapore, July 15, 2015.
  14. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," 2nd EOC Symposium, Nankai University, Tianjin, China, July 12, 2015.
  15. M. Inoue, "Radical-Based Approach for Synthesis of Complex Natural Products," Bürgenstock Conference, Brunnen, Switzerland, May 1, 2015.

招待講演-国内学会・学術講演会:計 8 件

1. 井上将行, "薬を創る化学," EMP プログラム, 東京大学(東京都, 文京区), 2017 年 1 月 20 日
2. 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化: 橋頭位ラジカルの利用," 長崎大学大学院医師薬学総合研究科, 長崎, 2016 年 11 月 11 日

3. 井上将行, "複雑な化合物を合成するときの合成戦略," 化学技術基礎講座・製品開発に必要な有機合成化学の基礎, 日本化学会館, 東京, 2016 年 10 月 7 日
4. 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化," 第 51 回天然物談話会, 東映ホテル, 新潟県, 2016 年 7 月 8 日
5. 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化," 第 5 回慶應義塾大学戦略的研究基盤形成支援事業シンポジウム, 有機合成化学-効率化と環境調和性-, 慶應義塾大学, 横浜, 2016 年 3 月 14 日
6. 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化: 橋頭位ラジカルの利用," 東京農工大学大学院工学研究院, 東京, 2015 年 12 月 2 日
7. 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化," 公益財団法人乙卯研究所 創立 100 周年記念講演会, 川崎, 2015 年 10 月 10 日
8. 井上将行, "ラジカル反応の活用による複雑分子構築の単純化," 有機合成夏期セミナー「明日の有機合成化学」, 大阪, 2015 年 9 月 1 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

東京大学大学院薬学系研究科有機反応化学  
教室ホームページ

<http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~inoue/index.html>

## 6 . 研究組織

### (1)研究代表者

井上 将行 (INOUE, Masayuki)  
東京大学・大学院薬学系研究科・教授  
研究者番号 : 70322998

### (4)研究協力者

長友 優典 (NAGATOMO, Masanori)  
東京大学・大学院薬学系研究科・助教  
研究者番号 : 70634161