

機関番号：11301
 研究種目：若手研究（B）
 研究期間：2009～2010
 課題番号：21710216
 研究課題名（和文） HIV プロテアーゼ阻害活性天然物の全合成と部分構造ライブラリーの作製
 研究課題名（英文） Total synthesis of a natural HIV protease inhibitor and its partial structures

研究代表者
 不破 春彦（HARUHIKO FUWA）
 東北大学・大学院生命科学研究科・准教授
 研究者番号：90359638

研究成果の概要（和文）：HIV プロテアーゼは、ウイルスの増殖に必要なタンパク質の生産を担う蛋白分解酵素であることから、この酵素機能の阻害により HIV の増殖を強力に抑制できると知られている。本研究では、特異な作用機序で HIV プロテアーゼを阻害する海洋天然物ディデムナケタールおよびその部分構造の合成研究を行った。現在までにディデムナケタール B の C1-C11 鎖状部分構造と C9-C28 スピロアセタール部分構造それぞれの立体選択的な合成を完了した。

研究成果の概要（英文）： HIV protease is an enzyme responsible for the proteolysis of the polyprotein expressed by the retrovirus to produce matured proteins necessary for proliferation and infection. Thus, the inhibition of HIV protease represents an important therapeutic strategy for HIV-infected patients. In the present study, we have investigated synthetic routes toward marine natural products didemnaketals and their partial structures. We have completed the stereoselective syntheses of the C1-C11 acyclic domain and C9-C28 spiroacetal domain of didemnaketals B.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,600,000	480,000	2,080,000
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：天然物合成化学

科研費の分科・細目：生物分子科学

キーワード：HIV プロテアーゼ・全合成・ディデムナケタール・構造決定

1. 研究開始当初の背景

HIV プロテアーゼ (HIV PR) は、ウイルスが発現する gag タンパクや逆転写酵素などを含む未成熟な複合タンパク質を加水分解することで、ウイルスの増殖に必要な成熟タンパク質の生産を担う、タンパク質分解酵素である (S. Seelmeier, H. Schmidt, V. Turk, K. von der Helm, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **85**, 6612 (1988)). HIV PR の酵素機能の阻害により、

ウイルスの増殖を強力に抑制できると知られている。このため、HIV PR は AIDS 治療における有力な創薬ターゲットである。

HIV PR は、アスパラギン酸プロテアーゼに分類され、99 個のアミノ酸残基からなるタンパク質のホモダイマーとして存在する (M. A. Navia, M. D. P. Fitzgerald, B. M. Mckeever, C.-T. Leu, J. C. Heimbach, W. K. Herber, I. S. Sigal, P. L. Darke, J. P. Spronger, *Nature*, **337**, 615 (1989); A. Wlodawer, M. Miller, M.

Jaskolski, B. K. Sathyanarayana, E. Baldwin, I. T. Weber, L. M. Selk, L. Clawson, J. Schneider, S. B. H. Kent, *Science*, **245**, 616 (1989)). その活性中心でタンパク質のペプチド結合が触媒的に加水分解される。現在までに報告されている主な HIV PR 阻害薬は、この酵素反応機構を考慮し、加水分解を受ける基質 (タンパク質) の遷移状態を模倣するよう分子設計された、ヒドロキシエチレンアイソスターを含む基質模倣アナログである (A. Brik, C.-H. Wong, *Org. Biomol. Chem.*, **1**, 5 (2003); A. Mastrolorenzo, M. Rusconi, A. Scozzafava, G. Barbaro, C. T. Supran, *Curr. Med. Chem.*, **14**, 2734 (2007); Y. S. Tsantrizos, *Acc. Chem. Res.*, **41**, 1252 (2008)). しかし、HIV は突然変異により薬剤耐性を獲得しやすいことが知られている。HIV PR の活性中心近傍のアミノ酸残基置換が引き起こされる突然変異による薬剤耐性の獲得も報告されており、この点が基質模倣型 HIV PR 阻害薬の弱点である (J. H. Condra, W. A. Schleif, O. M. Blahy, L. J. Babryelski, D. J. Graham, J. Quintero, A. Rhodes, H. L. Robbins, E. Roth, M. Shivaprakash, D. Titus, T. Yang, H. Teplert, K. E. Squires, P. J. Deutsch, E. A. Emini, *Nature*, **374**, 569 (1995)).

1991 年に Faulkner らにより、ディデムナケタール A—C の単離とその平面構造が報告された (B. C. M. Potts, D. J. Faulkner, J. A. Chan, G. C. Simolike, P. Offen, M. E. Hemling, T. A. Francis, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 6321 (1991)). ディデムナケタール A—C はパラオ産のホヤ *Didemnum* 種の二次代謝産物として当初は報告されたが、のちにディデムナケタール A および B は C の分解産物であることが明らかになった (J. Pika, D. J. Faulkner, *Nat. Prod. Lett.*, **7**, 291 (1995)). さらに、Faulkner らは天然物の分解・誘導実験により得た部分構造に対し、改良 Mosher 法 (I. Ohtani, T. Kusumi, Y. Kashman, H. Kakisawa, *J. Am. Chem. Soc.*, **113**, 4092 (1991)) の適用や合成試料との比較を行い、ディデムナケタール類の全立体構造を報告した (C. E. Salomon, D. H. Williams, E. Lobkovsky, J. C. Clardy, D. J. Faulkner, *Org. Lett.*, **4**, 1699 (2002)). ディデムナケタール A と B は、HIV PR を *in vitro* で強力に阻害する ($IC_{50} = 2, 10 \mu M$) が、基質模倣型 HIV PR 阻害薬とは異なる特異な作用機序を示す。すなわち、化合物が活性中心にはまり込むことでタンパク質—基質の相互作用を阻害するのではなく、HIV PR の二量体化 (タンパク質—タンパク質相互作用) を阻害することで、活性中心の形成を阻害する。HIV PR の二量体化を阻害する薬剤としては、Ghosh/Mitsuya らが開発したダルナビルおよびその構造類縁体が知られているが (Y. Koh, H. Nakata, K. Maeda, H. Ogata, G. Bilcer, T. Devasamudram, J. F. Kincaid, P. Boross, Y.-F. Wang, Y. Tie, P.

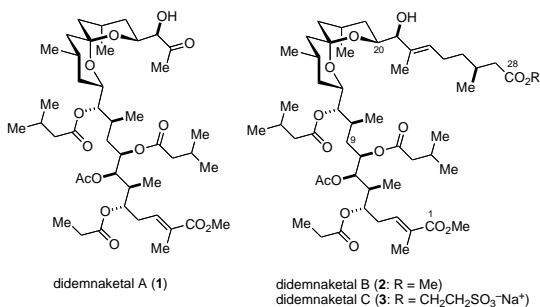
Volarath, L. Gaddis, R. W. Harrison, I. T. Weber, A. K. Ghosh, H. Mitsuya, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **47**, 3123 (2003); A. K. Ghosh, P. R. Sridhar, S. Leshchenko, A. K. Hussain, J. Li, A. Y. Kovalevsky, D. E. Walters, J. E. Wedekind, V. Grum-Tokars, D. Das, Y. Koh, K. Maeda, H. Gatanaga, I. T. Weber, H. Mitsuya, *J. Med. Chem.*, **49**, 5252 (2006))、ディデムナケタール A と B は HIV PR 二量体化阻害薬の新しいシリーズとして興味深い。

ディデムナケタール類は特異で複雑な分子構造を有するとともに有用な生物活性を示すことから、有機合成化学の標的分子として注目されている。実際に、現在までに複数のグループがディデムナケタール類の合成研究を報告している。例えば、Tu らはディデムナケタール A の C1—C8 鎖状部分構造 (X. Z. Zhao, Y. Q. Tu, L. Peng, X. Q. Li, Y. X. Zia, *Tetrahedron Lett.*, **45**, 3713 (2004)) および C9—C23 スピロアセタール部分構造 (X. Z. Zhao, L. Peng, M. Tang, Y. Q. Tu, S. H. Gao, *Tetrahedron Lett.*, **46**, 6941 (2005)) の合成を報告している。最近では伊藤らがディデムナケタール B の C9—C28 スピロアセタール部分構造の合成を報告した (H. Ito, T. Inoue, and K. Iguchi, *Org. Lett.*, **10**, 3873 (2008))。また Rich らはディデムナケタール類の鎖状部分構造が HIV PR 阻害活性に重要であることを明らかとしている (X. Fan, G. R. Flentke, D. H. Rich, *J. Am. Chem. Soc.*, **120**, 8893 (1998))。しかし、ディデムナケタール類の全合成は未だ達成されていない。

2. 研究の目的

本研究では、ディデムナケタール類の全合成を行い、その全立体構造を確認することを目的の一つとした。ディデムナケタールは一本の炭素鎖からなる骨格に多数の不斉点を配した、極めて複雑な分子構造を有するため、全合成による構造確認が必須である。また、化学合成による化合物供給の確立を以て、ディデムナケタール類の作用機序解析研究の推進を図ることも、本研究の目的である。さらに、全合成研究を推進することでディデムナケタール類の部分構造およびその立体異性体の実践的な供給が可能となる。本研究では、Rich らの報告を参考に、ディデムナケタール類の鎖状部分構造を基盤とした化合物ライブラリーを構築し、活性評価を行うことで、天然物よりも構造が単純な新しい創薬シードの探索を行うことを最終的な目標とした。

3. 研究の方法



ディデムナケタール類は多数の不斉点を配した複雑な炭素骨格からなる分子構造を有する。そこで本研究では、まずディデムナケタールBのC1–C11鎖状部分構造とC9–C28スピロアセタール部分構造について、それぞれ独立して合成研究を行い、全合成へ向けた予備的な知見の集積を図ることとした。

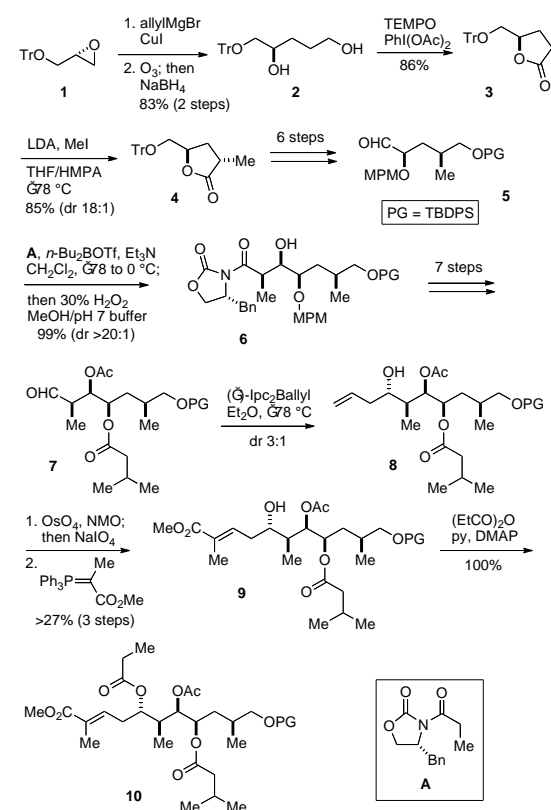
4. 研究成果

【ディデムナケタールBのC1–C11鎖状部分構造の合成と立体構造解析】

市販のトリチル(R)-グリシジルエーテル(**1**)を出発原料とし、アリル Grignard 試薬によるエポキシドの位置選択的開環と続くオゾン酸化-還元によりジオール **2** へと導いた (Scheme 1)。化合物 **2** の酸化的ラクトン化により得たラクトン **3** を立体選択的にメチル化することで、既知化合物 **4** (K. Tomioka, Y. S. Cho, F. Sato, K. Koga, *J. Org. Chem.*, **53**, 4094 (1988)) を高効率的に得た。化合物 **4** を6段階で誘導して得たアルデヒド **5** に対するクロチル化を種々検討したが、いずれの場合もジアステレオ選択性は低く実用的ではなかった。一方、化合物 **5** の Evans *syn*-aldol 反応 (D. A. Evans, J. Bartroli, T. L. Shih, *J. Am. Chem. Soc.*, **103**, 2127 (1981)) を、不斉補助基 **A** を用いて行ったところ、二級アルコール **6** を単一の立体異性体としてほぼ定量的に得た。続いて7段階の変換ののちに得たアルデヒド **7** に対し、Brown 不斉アリル化 (H. C. Brown, P. K. Jadhav, *J. Am. Chem. Soc.*, **105**, 2092 (1981)) を行ってホモアリルアルコール **8** をジアステレオ選択性約 3:1 で得た。化合物 **8** の二重結合を酸化的に切断した後、Wittig 反応を行うことで不飽和エステル **9** へ誘導した。この段階で C5 位エピマーの分離を行った。最後に C5 位にアシル基を導入することで C1–C11 鎖状部分構造 **10** の合成を完了した。

合成品と天然物 (ディデムナケタール A) の対応する部分に関して ¹H および ¹³C NMR スペクトルの化学シフト値を比較した。その結果、天然物のアシル基由来のシグナルのアサインに誤りが見いだされた以外は良い一致を示した。また、合成品と天然物 (ディデムナケタール B) の対応する部分に関する ¹H

NMR スペクトルの化学シフト値も良い一致を示した。



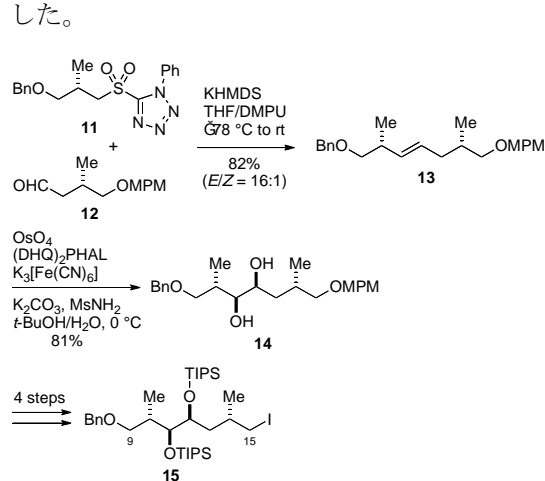
Scheme 1. C1–C11 鎖状部分構造の合成

【ディデムナケタールBのC9–C28スピロアセタール部分構造の合成と立体構造解析】

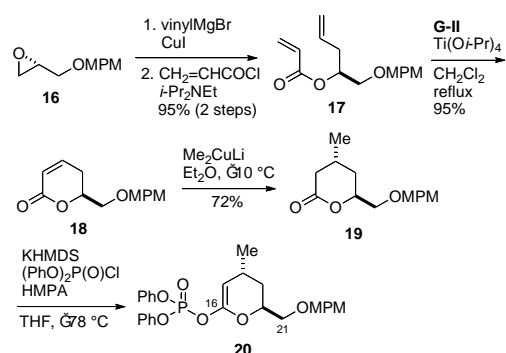
C9–C15 フラグメントの合成は、出発原料に光学活性な Roche エステルを活用した (Scheme 2)。すなわち、市販の (*S*)-Roche エステルおよび (*R*)-Roche エステルからそれぞれ数段階で得たスルホン **11** とアルデヒド **12** とを Julia–Kocienski 反応 (P. R. Blakemore, W. J. Cole, P. J. Kocienski, A. Morley, *Synlett*, **26** (1998)) により連結して、オレフィン **13** を高い *E/Z* 選択性で収率よく得た。続いて Sharpless 不斉ジヒドロキシ化 (H. C. Kolb, M. S. van Nieuwenhze, K. B. Sharpless, *Chem. Rev.*, **94**, 2483 (1994)) を行い、再結晶してジオール **14** を単一の立体異性体として得た。その後、保護基の変換などを含む4段階でヨウ素体 **15** へと導いた。

一方、C16–C21 フラグメントの合成は既知化合物 **16** (K. C. Nicolaou et al., *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 15433 (2003)) を原料として行った (Scheme 3)。化合物 **16** に対しビニル Grignard 試薬を用いた位置選択的なエポキシドの開環反応とアシル化を行うことによりジエン **17** を得た。化合物 **17** の閉環メタセシス反応は Ti(Oi-Pr)₄ 存在下 (A. Fürstner, K. Langemann, *J. Am. Chem. Soc.*, **119**, 9130 (1997)) で Grubbs 第二世代触媒 (M. Scholl, S. Ding, C. W. Lee, R.

H. Grubbs, *Org. Lett.*, **1**, 953 (1999))を作用させることで円滑に進行し、不飽和ラクトン **18** を収率よく得た。化合物 **18** をギルマン試薬で処理してラクトン **19** を単一の立体異性体として得た後(S. Takano, Y. Shimazaki, M. Moriya, K. Ogasawara, *Chem. Lett.*, 1177 (1990)), エノールホスフェート **20** へと変換した。



Scheme 2. C9–C15 フラグメントの合成

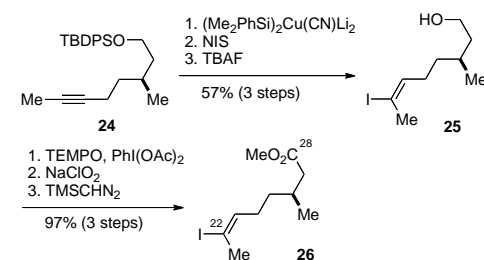
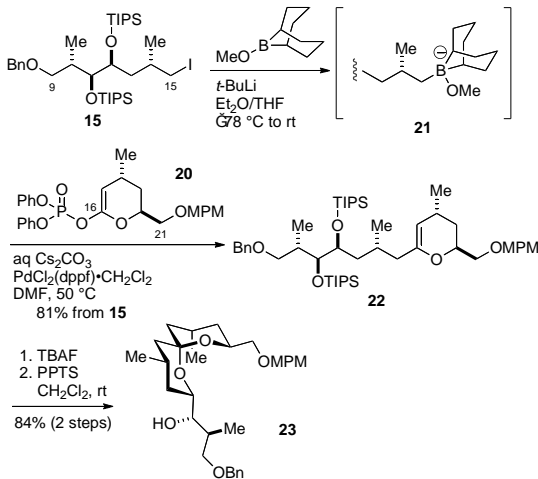


Scheme 3. C16–C21 フラグメントの合成

続いてヨウ素体 **15** を対応するアルキルボレート **21** へと変換した後(H. Fuwa, K. Ishigai, T. Goto, A. Suzuki, M. Sasaki, *J. Org. Chem.*, **74**, 4024 (2009)), これを単離すること無くエノールホスフェート **20** との鈴木-宮浦反応(N. Miyaura, A. Suzuki, *Chem. Rev.*, **95**, 2457 (1995))を行った(Scheme 4)。種々条件検討した結果、触媒として $\text{PdCl}_2(\text{dppf})\cdot\text{CH}_2\text{Cl}_2$ 錯体を用いると収率よく目的のエノールエーテル **22** が得られることを見いだした。化合物 **22** のシリル基を脱保護した後、ジクロロメタン中室で PPTS 処理したところ、ダブルアノマー効果により熱力学的に安定なスピロアセタール **23** を単一の立体異性体として得ることに成功した。

C22–C28 側鎖は既知化合物 **24** (H. Ito, T. Inoue, and K. Iguchi, *Org. Lett.*, **10**, 3873 (2008)) より合成した(Scheme 5)。位置選択的なシリルクプラート化(I. Fleming, T. W. Newton, F. Roessler, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2527 (1981))と NIS 処理(D. P. Stamos, A. G. Taylor, Y.

Kishi, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 8647 (1996)), シリル基の脱保護により、ビニルヨウ素体 **25** を中程度の収率で得た。化合物 **25** を二段階の酸化とメチルエステル化により目的の C22–C28 フラグメント **26** へと誘導した。



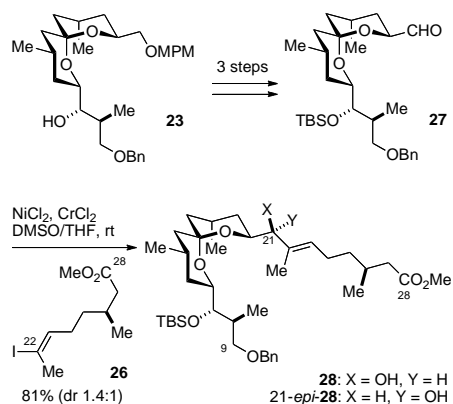
Scheme 4. スピロアセタール部分構造の構築

Scheme 5. C22–C28 フラグメントの合成

最後に、化合物 **23** から 3 段階で得たアルデヒド **27** に対し、ビニルヨウ素体 **26** との野崎-檜山-岸反応(K. Takai, K. Kimura, T. Kuroda, T. Hiyama, H. Nozaki, *Tetrahedron Lett.*, **24**, 5281 (1983); H. Jin, J. Uenishi, W. J. Christ, Y. Kishi, *J. Am. Chem. Soc.*, **108**, 5644 (1986))を行ったところ、C9–C28 スピロアセタール **28** とその C21 エピマーである 21-*epi*-**28** を約 1.4:1 の混合物として収率 81%で得ることができた。これらのジアステレオマー混合物は分取 TLC により分離可能で、それぞれ改良 Mosher 法を適用することで、C21 位の立体化学を決定した。本反応の立体選択性は非常に低かったものの、化合物 **28** と 21-*epi*-**28** は酸化-還元により相互に変換可能であることを見いだした。以上を以て、C9–C28 スピロアセタール部分構造の合成を完了した。

合成品と天然物 (ディデムナケタール B) の対応する部分に関して $^1\text{H NMR}$ スペクトルの化学シフト値を比較した。その結果、一部のシグナルの化学シフト値に顕著な差異が見いだされた。天然物の平面構造に誤りがあ

るとは考えにくいことから、天然物の C9–C28 スピロアセタール部分構造の相対立体配置に誤りがあることが示唆された。現在、天然物および合成した部分構造の NMR スペクトルデータを検討中である。



Scheme 6. C9–C28 スピロアセタール部分構造の合成

【総括】

本研究では、海洋天然物ディデムナケタール B の C1–C11 鎖状部分構造および C9–C28 スピロアセタール部分構造の立体選択的合成と立体構造解析を行った。本研究によりディデムナケタール B の全合成に向けて必要な知見を集積できたとともに、本天然物の C9–C28 スピロアセタール部分構造の相対立体配置を再度精査する必要性を明らかにすることができた。現在、天然物および合成した部分構造の NMR スペクトルデータを検討中である。さらに今回確立した合成ルートを活用することで、HIV PR 阻害活性に重要な鎖状部分構造の立体異性体ライブラリーの構築も可能と考えている。

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 1 件 ; 査読有)

(1) Haruhiko Fuwa, Sayaka Noji, and Makoto Sasaki: Convergent Assembly of the Spiroacetal Subunit of Didemnaketal B, *Org. Lett.*, **12**, 5354–5357 (2010).

〔学会発表〕 (計 4 件)

(1) 関根久美子, 不破春彦, 佐々木 誠: ディデムナケタール B の全合成研究, 日本化学会第 92 春季年会, 横浜, 2012 年 3 月 27 日

(2) 関根久美子, 不破春彦, 佐々木 誠: ディデムナケタール C1–C11 フラグメントの立体選択的合成, 平成 23 年度化学系学協会東北大会, 仙台, 2011 年 9 月 17 日.

(3) 野地紗也加, 不破春彦, 佐々木 誠: ディデムナケタール B の C9–C28 サブユニットの合成研究, 第 90 回日本化学会春季年会, 東

大阪, 2010 年 3 月 27 日.

(4) Sayaka Noji, Haruhiko Fuwa, and Makoto Sasaki: Studies toward the total synthesis of didemnaketals, The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2010, Honolulu, USA, December 18, 2010.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

不破 春彦 (HARUHIKO FUWA)

東北大学・大学院生命科学研究所・准教授

研究者番号 : 90359638