

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 29 日現在

機関番号：17401  
研究種目：挑戦的萌芽研究  
研究期間：2013～2014  
課題番号：25670005  
研究課題名(和文)水を溶媒とするアルカロイドの革新的合成法の開発

研究課題名(英文) Innovative Synthesis of Alkaloids in Water

## 研究代表者

石川 勇人 (Ishikawa, Hayato)

熊本大学・自然科学研究科・准教授

研究者番号：80453827

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：これまでの有機合成反応は有機溶媒中で行うのが常であった。今回、我々は天然由来の塩基性成分であるアルカロイドが酸性水溶液中で塩を形成するために、水に可溶になる現象に着目した。この現象を利用して生体成分である水中での有機合成反応の開発を行った。結果として、生体内で行われている幾つかの化学反応をフラスコ内で完全水中で行うことに成功し、有用な生物活性天然物の全合成研究へと応用した。開発した合成法はこれまでに報告されている合成法と比べて非常に簡便であり、網羅的に天然物を合成できる上、水溶媒であるために環境に優しい。

研究成果の概要(英文)：Organic reactions in water are not easy because common organic compounds are usually insoluble in water, and sometimes the water reacts with substrates or reagents. With alkaloids that contain basic amine portions in the molecule, such situations occur under neutral or basic conditions. In contrast, in acidic conditions, basic alkaloids form water-soluble salts. we have developed direct bio-inspired dimerization reactions along with our proposed biosynthetic pathway from commercially available amine-free tryptophan derivatives in aqueous acidic media. Then, concise two-pot or three-step syntheses of naturally occurring dimeric diketopiperazine alkaloids were accomplished. Then, satisfactory total yields are obtained compared with previous reported synthesis.

研究分野：有機合成化学

キーワード：バイオインスパイアード反応 水中反応 アルカロイド 生合成模倣的合成

## 1. 研究開始当初の背景

生物は保護基や有機溶媒を一切用いることなく複雑な天然有機化合物を産出しており、その中には人類にとって有益な生物活性を持つものも数多く知られている。自然界における天然物生合成経路は、時に最も効率的な全合成経路を示唆しているにもかかわらず、生体内酵素反応の理解が不十分であるため、人工的にフラスコ内で再現する事は容易ではない。現在の天然物全合成研究は有機溶媒中で反応を行ない、反応性の高い官能基は保護基を用いてその活性を失活させ、順次フラグメントを構築していく手法が常法となっている。有機合成において水は環境に優しく、生物の大部分を占める構成分子であり、生合成の観点からも理想的な溶媒と言える。しかし、通常の有機合成においては、水そのものが反応してしまう、原料となる有機物が水に不溶な場合が多いなどの理由から用いられる事は少ない。我々は、自然界に存在する塩基性成分(アルカロイド)が酸性水溶液中で塩を形成し、水に可溶になる現象に着目した。すなわち、塩形成を利用し、完全水中で生合成を考慮した化学合成反応(バイオインスパイアード反応)を開発できると考えた。また、塩を形成すれば、塩基性を示すローンペアはプロトン酸で保護された状態と考えることもでき、保護基の導入などの煩雑な操作が回避できる事にも繋がる。以上の着想のもと、我々はトリプトファン由来ジケトピペラジンアルカロイド及びプレニル化アルカロイドに着目した(Figure 1)。塩基性を示すトリプトファンを基本構成単位として、様々な二量化様式を持つ1~3、また、インドール環上にプレニル基が様々な部位で置換されたアルカロイド4~6を合成票的とした。

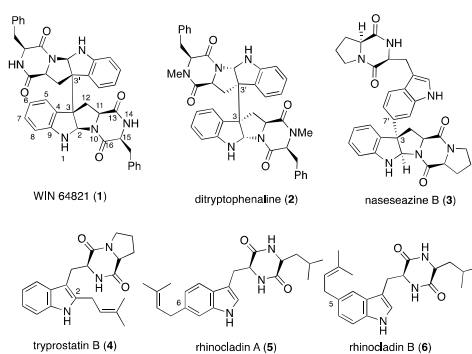


Figure 1: Tryptophane based diketopiperazine alkaloids and prenylated alkaloids

## 2. 研究の目的

トリプトファン由来ジケトピペラジンアルカロイドおよびプレニル化アルカロイドは自然界に数多く存在し、多彩な生物活性を有している事が知られている。生体内で本アルカロイド類が、トリプトファンから直接二

量化もしくはプレニル化されている事は容易に推測できるが、直接的、かつ水中で合成した例は無い。自然界で起きている水中反応をフラスコ内で再現し、上記アルカロイド類の基本骨格を1段階で合成し、更に天然物までの合成経路も保護基等を極力用いず行う事で1~6の標的化合物を全工程5段階以内の全合成を目指すこととした。本提案が成功すれば、天然物全合成における水中での生合成模倣的バイオインスパイアード反応の利用と、その重要性を提案することができ、今後の有機合成における大きな潮流となることが期待される。また、天然物化学と工業的なプロセス化学を結びつける複合領域研究の先駆けとなる事を期待した。

## 3. 研究の方法

上述の研究目的を達成するため、トリプトファンエチルエステル(7)を基質とし、様々な酸性水溶液中反応を行う。トリプトファンエチルエステル(7)は1級アミン部位を持つため、酸性水溶液中、塩となり水に溶解する。二量体型アルカロイドの合成は、水に可溶かつ水和されている金属一電子酸化剤を選択し、トリプトファンの直接的二量化反応を試みる。その後、対応するアミノ酸との脱水縮合、ジケトピペラジン形成反応により1~3の天然物へ導く。さらに、ワンポット反応へと展開し、網羅的に天然物を合成する。続いて、合成した天然物ライブラリーを共同研究により生物活性試験を行い、新しい医薬品のリード化合物とする。プレニル化インドールアルカロイドの合成は水に可溶なプレニル化剤としてジメチルアリル2リン酸(DMAPP)を合成し、トリプトファンエチルエステル(7)を基質として水中プレニル化反応を開発する。開発したプレニル化反応を鍵工程として、天然物の全合成へ展開する。その際、工程数の簡略化、プロセス化学への応用を考慮に入れ、ワンポット反応を駆使する。

## 4. 研究成果

市販のトリプトファンエチルエステル(7)を基質として、様々な酸性水溶液中、多角的に金属一電子酸化剤の検討を行った。その結果、3Mメタンサルホン酸水溶液中、酢酸マンガンを酸化剤に用いた場合に望む二量化反応が進行することを見出した(Table 1)。興味深いことに、それぞれの酸化剤と温度によって生成物の選択性が若干異なっていた。すなわち、酢酸マンガンを酸化剤に用いた場合には、3位と7位で架橋構造を持つ非対称型二量体生成物10が主生成物として得られるのに対し、酸化バナジウムを低温下作用させると3位同士で結合した対称型二量体8および9が主生成物として得られる。二量体8、9、10の立体配置は各天然物1から3と同一である。また、28%と決して効率の良い反応とは言えないが、10

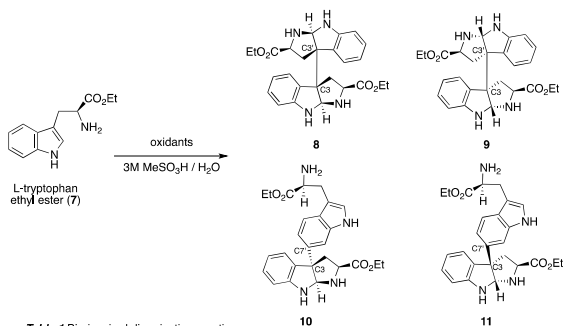
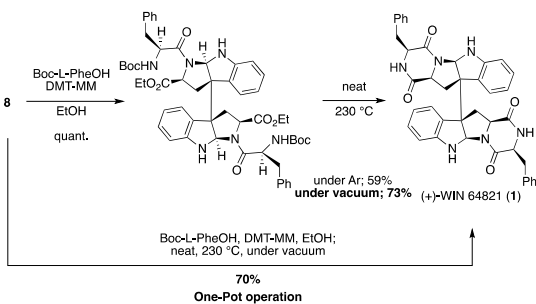


Table 1 Bio-inspired dimerization reaction

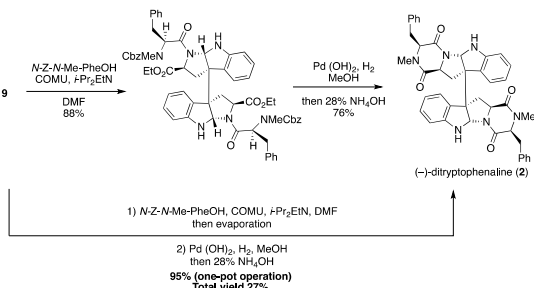
entry	oxidant	temp. [°C]	time	yield [%]				recovered 7
				8	9	10	11	
1	Mn(OAc) <sub>3</sub>	0	40 min	19	11	28	21	4
2	VOF <sub>3</sub>	-10	30 min	19	11	28	24	8
3	V <sub>2</sub> O <sub>5</sub>	-15	126 h	28	28	14	10	0

グラムスケールでも再現よく進行し、さらに、容易にそれぞれの異性体が分離できることから実用的な方法であると考えている。得られたそれぞれの二量体から天然物の短段階合成へと展開した。すなわち、得られた中間体 8 に N-Boc L-フェニルアラニン を 国嶋試薬として知られる 4-(4,6-dimethoxy-1,3,5-triazin-2-yl)-4-methylmorpholinium chloride (DMT-MM) を縮合剤として用いて縮合し、続いて無溶媒条件で加熱することにより WIN64821 (1) の合成を達成した (Scheme 1)。また、この二段階反応はワンポット反応へと応用し、収率 70% で 1 を得ることができる。また、反応溶媒として使用したのは水とエタノールだけであり、環境にも優しい合成といえる。



Scheme 1 synthesis of WIN 64821 via one-pot procedure with Boc-L-PheOH

一方、ジトリプトフェナリン (2) の合成は中間体 9 を基質として N-Me-Cbz-フェニルアラニン との縮合を (1-cyano-2-ethoxy-2-oxoethylideneaminoxyl)dimethylaminomorpholinocarbenium hexafluorophosphate (COMU) を用いて行い、続いて水素添加反応、アミン処理によるジケトピペラジン環構築反応により達成された。なお、本法もワンポット反応へと適用可能で



Scheme 2. synthesis of ditryptophenaline with N-Z-N-Me-PheOH via one-pot sequence.

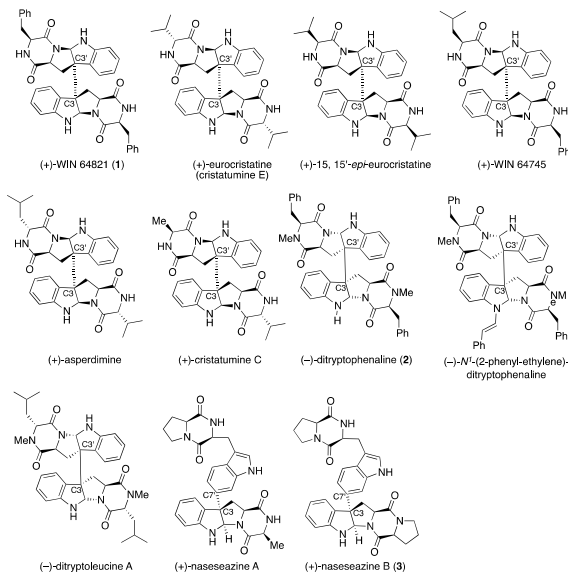
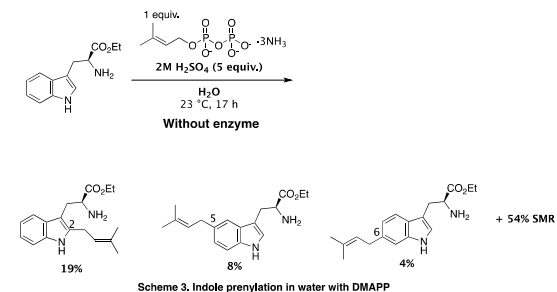


Figure 2: Synthesized natural alkaloids via bio-inspired reaction

あり、効率的に 2 を得ることができる (Scheme 2)。

以上の開発した方法論を駆使して、これまで天然より見出されているトリプトファン由来二量体型ジケトピペラジナルカロイド類の網羅的全合成を行った。いずれの合成もわずか 2 ポットで合成することができ、現在までに、Figure 2 に示す 11 種の天然物および類縁体の全合成を完了している。さらに、得られた天然物ライブラリーの生物活性試験を行った結果、これまでに報告例のない抗がん活性や動脈硬化改善作用を見出した。

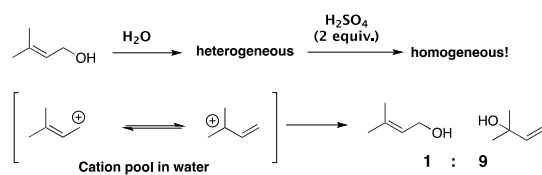
続いて、インドールプレニル化反応の開発について、報告する。研究方法で述べたように我々は DMAPP を別途合成し、酸性水溶液中でトリプトファンエチルエステル (7) と DMAPP を 5 当量の硫酸水溶液中で反応を行った (Scheme 3)。その結果、我々が意図した通り酵素が存在しなくてもインドールプレニル化反応が進行し、2-プレニル体を 19%、5-プレニル体を 8%、6-プレニル体を 4% 得ることに成功した。この結果から、インドールのプレニル化反応には必ずしも酵素が必要ないことが明らかとなった。これまでプレニル化反応は酵素による疎水場が必要であると信じられてきた反応であり、常識を覆す反応であると考えている。



Scheme 3. Indole prenylation in water with DMAPP

一方で、DMAPP は酸性水溶液中で速やかに加水分解されて、プレニルアルコールへと変換される懸念があった。プレニルアルコールと

水を混ぜ合わせると完全にエマルジョン(二層)になる。上記反応が完全均一系で進行していたため、プレニルアルコールへの変換は当初疑っていなかった。しかしながら、酸性水溶液中でプレニルアルコールが水に溶ける可能性が残っていたため検討を行った。驚いたことに、エマルジョンを形成していたプレニルアルコールは1当量の硫酸を添加すると完全均一系になることが明らかとなった(Scheme 4)。この事実は硫酸水溶液中でプレニルアルコールがオキソニウムカチオン等価体として存在し、生体成分である水に溶解していることを示す。実際に一晩酸性水溶液中に暴露したプレニルアルコールは水酸基の転位反応により3級アルコールへと平衡反応が偏っていることが明らかとなった。以上の結果から、我々が先に行ったインドールプレニル化反応は、反応系内でプレニルアルコールが生じ、プレニルカチオンとなった

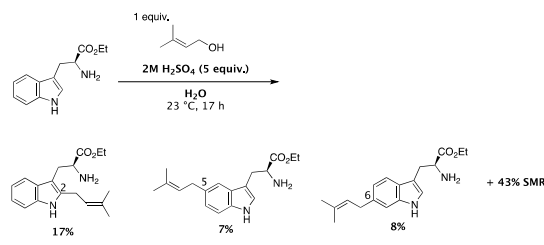


Scheme 4. Prenyl cation in acidic water

後、インドール環上でFriedel-Craft アルキル化反応が起きていることが強く示唆された。そこで、DMAPP の代わりにプレニルアルコールを用いて反応を行った(Scheme 5)。その結果、予想通りプレニルアルコールを求電子剤として用いた場合にも DMAPP とほぼ同様の収率でインドールプレニル化体が得られることを見出した。酸性水溶液中、アルコールとアミノ酸誘導体をまさに混ぜるのみで反応が進行することから、生合成の観点だけでなく、工業化学的観点からも非常に興味深い。現在、収率の向上と天然物 4~6 への誘導化を検討している。

## 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 2 件)

Shinji Tadano, Yuri Mukaeda, Hayato Ishikawa, Bio-Inspired Dimerization Reaction of Tryptophan Derivatives in Aqueous Acidic Media: Three-Step Syntheses of (+)-WIN 64821, (-)-Ditryptophenaline and (+)-Nasesezine B, *Angewandte Chemie*

*International Edition*, 査読有り, 52 巻, 2013 年, pp. 7990-7994.

Shinji Tadano, Hayato Ishikawa, Synlett, 査読あり, 25 巻, 2014 年, pp. 157-162.

〔学会発表〕(計 6 件)

只野慎治、迎田友里、石川勇人、水中でのバイオインスパイアード反応を利用したWIN 64821、ジトリプトフェナリン、ナセセアジンBの3段階合成、第23回 万有福岡シンポジウム、2013年6月1日(土)九州大学

石川勇人、只野慎治、迎田友里、水中バイオインスパイアード反応を鍵工程とする二量体型ジケトピペラジンアルカロイド類の短段階合成、第55回 天然有機化合物討論会、2013年9月20日(金)同志社大学寒梅館

只野慎治、石川勇人、合成化学的手法によるジトリプトロイシンA、BおよびクリスタチュミンCの構造決定、日本薬学会第134年会、2014年3月28日(日)熊本大学  
石川勇人、生物に倣うインドール酸化反応を用いた生物活性アルカロイドの全合成、日本薬学会第134年会 シンポジウム、「薬学における生命指向型化学(生命現象解明を加速する統合的アプローチを探る)」、2014年3月30日(日)ホテル日航熊本

石川勇人、直接的骨格構築反応を利用する生物活性化合物の短段階合成、第31回 有機合成化学セミナー、2014年9月18日 福岡県志賀島国民休暇村

石川勇人、全合成におけるバイオインスパイアード反応と不斉有機触媒反応の利用、平成26年度 後期(秋期)有機合成化学講習会、2014年11月20日 日本薬学会会長井記念ホール

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.sci.kumamoto-u.ac.jp/~ishikawa/ishikawa-lab/Top.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

石川 勇人 (ISHIKAWA HAYATO)

熊本大学・大学院自然科学研究科・准教授

研究者番号：80453827