

「きのこ」由来の天然物の合成

Synthetic studies of mushroom chemicals

静岡県立大学薬学部薬学科 教授 **菅 敏幸**

Toshiyuki Kan (Professor)

School of pharmaceutical sciences, University of Shizuoka

東海大学 創造科学技術研究機構 特任准教授 **浅川 倫宏**

Tomohiro Asakawa (Specially Appointed Associate Professor)

Tokai University Institute of Innovative Science and Technology

静岡県立大学 薬学部薬学科 講師 **稲井 誠**

Makoto Inai (Assistant Professor)

School of pharmaceutical sciences, University of Shizuoka



キーワード

きのこ、天然物合成、Ns-strategy、フェアリーリング、濱島触媒

01 | はじめに

著者は、学生時代より魅力溢れる天然物の全合成をテーマとして研究を続ける幸運に恵まれてきた。また、2005年に独立して研究テーマを選定できる自由を得たにも拘らず、ポリシーもなく「縁のある(頼まれる?)天然物」の合成に追われている。しかし、最近の我々の研究を振り返ってみると、なぜか「きのこ」由来の化合物に取り組む機会が多くなっていることに気づいた。著者の恩師の松本毅先生と白濱清久先生はキノコを出発点とする天然物科学者である。残念なことに、著者のような素行と出来の良くない学生は研究室のメインストリームの化合物に触れることは許されなかった。そのため、いつのまにか「きのこ」は憧れの天然物になっていたようである。本論文では恩師や先輩たちへの感謝の気持ちを込めて、我々が静岡にて展開してきたキノコ由来の天然物の合成研究を紹介したい(図1)。

02 | スギヒラタケの不安定なアミノ酸

静岡に赴任以来、同郷(釧路出身)で北海道大学の先輩でもある静岡大学の河岸洋和教授が見出した化合物を合成する(させられる)機会に恵まれている。結果、すべては「全合成から始まる」を実感することができている。

まず依頼されたのは、スギヒラタケの毒成分であるアジリジンカルボン酸の合成である¹⁻⁵⁾。東北地方のスギやマツの倒木や古株に生息するスギヒラタケは、別名Angel's Wingと呼ばれる美しいキノコである(図2, 写真)。美味であることから広く食用とされてきたが、2004年に突然17名の死者を出す戦後最大の食中毒事件を引き起こした。当時、多くのワイドショーやニュースにてキノコ研究の大家としてインタビューを受ける河岸教授を「大変そうだな」と他人ごととして見ていた。いくつかの高分子化合物が毒物質として有力視されたが決定的ではなく、厚生労働省の調査班は原因不明と結論付けた。しかし、河岸教授はこの生命現象の鍵化合物は低分子化合物であると信じ、研究を継続していた。その結果、多くの新規低分子化合物が単離・構造決定され、その多くは、図2に示した7のように共通のβ-ヒドロキシバリン構造を有していた。さらに、α-ヒドロキシ-β-バリン8も単離されたことから、河岸教授はアジリジンカルボン酸1の存在を予測した。すなわち、7はアジリジンのβ位へ、8はα位への求核攻撃が進行した化合物であると考え、これら類縁化合物の存在は納得できる。スギヒラタケの毒成分として1の存在を信じて疑わない河岸教授は、静岡に着任して間もない著者にこの仮想天然物の合成を依頼(強制)してきた。誰が考えても不安定でしかも天然からは単離もされていない1を「合成せよ!!」とは非常に無理難題だった。しかし、北海道大学の後輩には先輩に「ノー」と言うことが許されなかった。研究

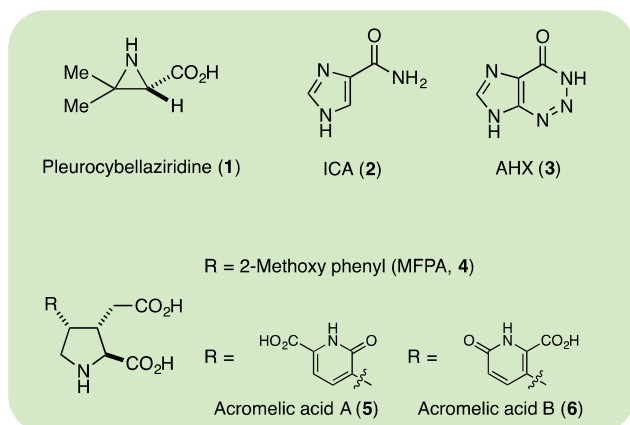


図1 著者らが静岡にて合成したキノコ由来の天然物の一部

の開始当初には合成に困難が予想されたが、一方で我々のNs-strategy⁶⁻⁸⁾の有用性を立証できるうれしいプロジェクトともなった。

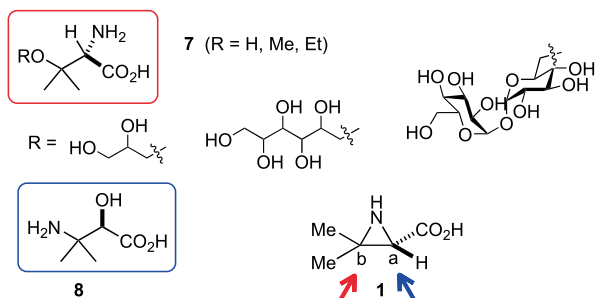


図2 スギヒラダケ(Angel's Wing)の写真と単離された化合物。

1のアジリジン環の不安定性を考えると、三員環構築には光延反応が有効であると考えた。さらに2つのメチル基はGrignard試薬により導入することにした。図3に示したように、セリンより容易に得られるアミノアルコール9の光延反応を試みた。窒素原子をCbz基にて保護したアミノアルコール9aの反応は進行しなかったが、Ns (2-nitrobenzenesulfonyl) アミド9bでは光延反応が進行してアジリジン10が得られた。ところが、10に対してNs基の脱保護条件である塩基存在下でのPhSH処理を行うと、アジリジン環α位への求核攻撃が進行し開環体11が得られた。しかし、このネガティブな結果は大きなチャンスを与えてくれた。我々は、Ns基よりも安定性は劣るが、穏和な求核剤である*n*-プロピルアミンにて脱保護可能なDNs (2,4-dinitrobenzenesulfonyl) 基の開発にも成功していた。そこで、DNs基を用いる活性化と脱保護のNs-strategyにより、環化とアジリジン環を損なわない脱保護が可能になると考えた。

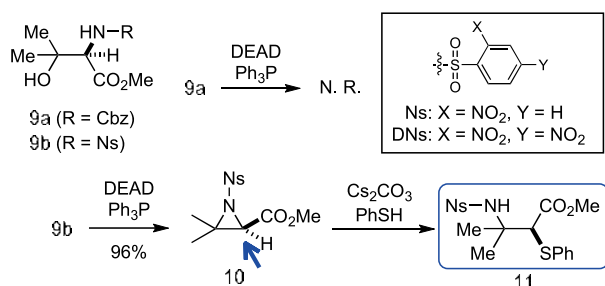


図3 化合物1のアジリジン環構築検討。

図4に示したように、エステル12に過剰量のMeMgBrを作用させてジメチルアルコールとした。アセトニドの除去後、13の第一級アルコールをTENPO酸化によりカルボン酸に変換し、14aのメチルエステル化とBoc基からDNs基への変換を行うことで14cとした。得られた14cに通常の光延反応の条件であるDEADとPh₃Pを作用させたところ、アジリジン環形成が進行した。さらに、*n*-プロピルアミンを作用させることで、Meisenheimer複合体の形成を経た脱保護反応が円滑に進行し、アジリジンの分解を伴わずにアジリジンエステル15が得られた。また、15は予想通り不安定であり、カラムクロマトグラフィーによる精製や濃縮過程にて分解を伴った。しかし、15はスギヒラダケ中のアジリジンカルボン酸1の存在証明に重要な化合物となった。当時、当研究室の助教であった脇本敏幸博士(現、北海道大学大学院薬学研究院・教授)が、河岸研究室の冷蔵庫に保管してあった2004年に採集されたスギヒラダケの凍結乾燥体のメタノール抽出液をジアゾメタンで処理し、その溶液を薄層クロマトグラフィーにて分析したところ、別途著者が合成したメチルエステル15と同じRfにスポットを確認できた。さらに、慎重な濃縮とシリカゲルクロマトグラフィーによる精製を繰り返したところ合成標品と完全に¹H NMRスペクトルが一致する物質を得て、アジリジンカルボン酸1がスギヒラダケに存在することを証明した。すなわち、河岸教授が夢に描いていた化合物は現実存在することを、我々の合成化学により明らかにできた。

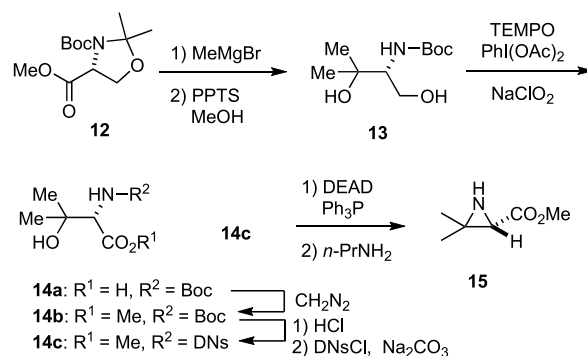


図4 メチルエステル誘導体15の合成。

次に、アジリジンカルボン酸1の絶対配置の決定と毒本体であることの証明のため、中性条件にて脱保護可能なDpm (ジフェニルメチル) エステル体19の合成を開始した。図5に示したように、メチルエステル15の合成と同様の方法にて、D体のセリンより調製したエステル16を出発原料とすることでS体の1を合成した。まず、カルボン酸16をDpmエステルとして保護した後、DNs基を導入した。立体障害の大きな17の光延反応では、14cとは異なり通常のDEADでは困難を伴ったが、DIADに変更することで反応が円滑に進行し18が得られた。さらに、18に*n*-プロピルアミンを作用させることでDNs基の脱保護は円滑に進行した。また、立体障害の大きなDpmエステル19のアジリジン環は、対応するメチルエステル15と比較して安定であった。そのため、天然物の熱安定性等存在確認実験は、ジフェニルジアゾメタン処理したエステルのHPLC分析にて実施された。さらに、水素添加条件にて19のジフェニルメチルエステルの脱保護を行い、1を初めて結晶として得た。また、合成品と天

天然物から誘導した**19**の旋光度の比較により、天然物の絶対配置を*S*と決定した。

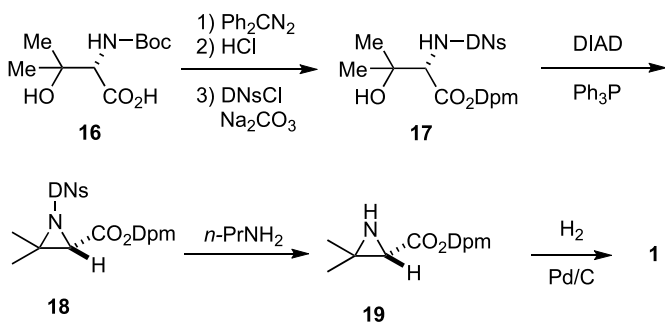


図5 化合物**1**のエンタチオ選択的合成

また、驚いたことに、合成した**1**は結晶状態での冷蔵保存にお

いて半年以上安定であったが、溶液中では分解が観測された。D₂O中における**1**の¹H NMRの測定結果から、時間経過に伴いアセトンとグリシンへの分解を確認した(図6)。このように、結晶状態では安定な天然物が水溶液中では不安定なことが単離・構造決定を困難にしてきたと考えている。さらに、山梨大学の長井薫准教授がオリゴデンドロサイトにおける細胞死活性を測定したところ、メチルエステル**15**には活性はなかったがカルボン酸**1**には強力な活性が観測された(図7)。現在でも、河岸研究室にて詳細な生物活性解明の研究が継続されている。このプロジェクトを通して、我々が天然物と呼んでいる化合物は、幸運にも安定で単離・構造決定できた化合物だけであるということを確認させられた。さらに、自然界には単離・構造決定に耐えられない短寿命の魅力的な化合物が存在することを示唆しており、天然物には無限の可能性があると教えてくれた。

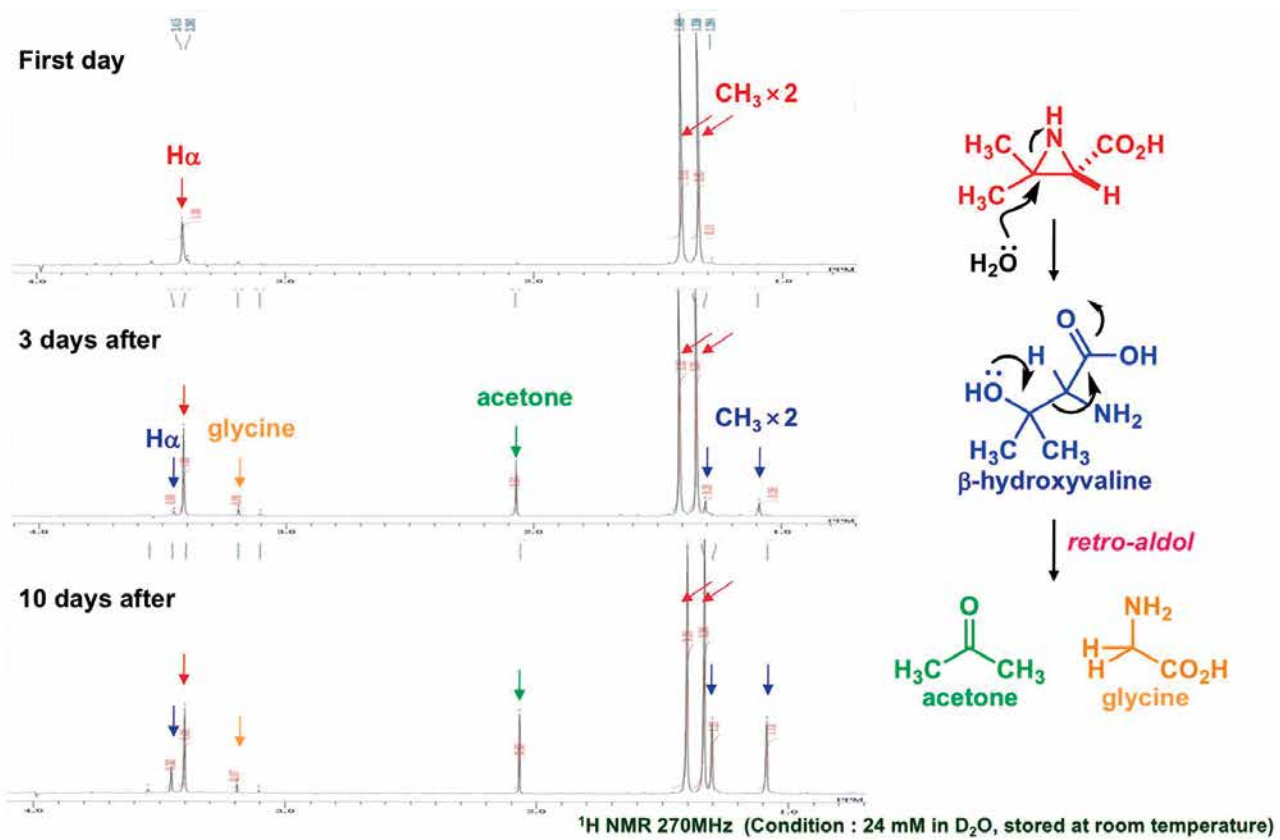
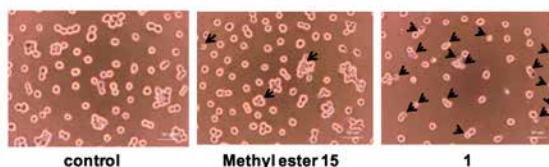
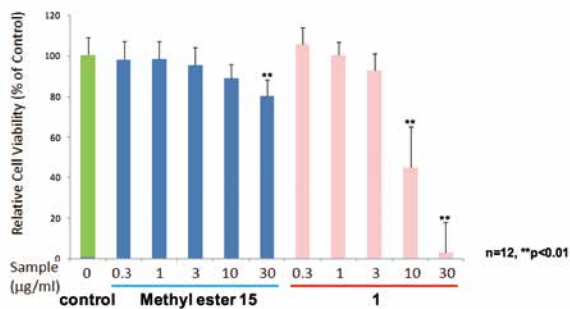


図6 重水中のアジリジンカルボン酸**1**の安定性



細胞株: オリゴデンドロサイト前駆体, CG4-16 細胞

図7 アジリジンカルボン酸**1**の毒性評価

03 | 天使の輪を惹起する「フェアリー化合物」の合成

フェアリーリング (Fairy rings) 現象とは芝が円状に繁茂する現象 (図8) で、ゴルフ場などでよく見ることが出来る。西洋の伝説では、妖精「フェアリー」が輪を作りその中で踊ると伝えられていた。この自然現象は19世紀以前から知られていたが、原因については不明のままであった。河岸教授が、自身の宿舍前の芝生にフェアリーリング現象を発見した際、芝生の繁茂後に円状にコムラサキシメジが現れることを発見した。そのため、このキノコが原因物質を産生すると考え、コムラサキシメジの菌糸体を培養したところ、ICA (**2**: imidazolecarboxamide) と AHX (**3**: azahipoxanthine) が含有されていることを見出し、単離・構造決定に成功した⁹⁾。また、**3**は芝に投与すると濃度依存的に成長を促進することも明らかにした (図9)。そして、**3**の酸化代謝物のAOH (**22**) の単離・構造決定にも成功し、**3**よりも強い成長促進活性を有することを明らかにした¹⁰⁾。我々の報告を紹介したNature誌がこれら植物成長化合物を「フェアリー化合物 (FCs: Fairy Chemicals)」と名付けて紹介した¹¹⁾ことから、これを慣用名として使用している。さらに、静岡大学のグループはFCsが芝生だけでなく、様々な植作物の成長も促進することを明らかにした。FCs投与後の成長制御の分子機構を解明するために植物の遺伝子解析 (DNAマイクロアレイ、RT-PCRなど) を検討した結果、FCsは植物に様々なストレス (高温、低温、塩、乾燥など) に対する耐性を与え、結果的に成長を促すと結論付けた。河岸教授と著者の故郷 (釧路) は、夏でも低温のため稲作が不可能な日本には珍しい地域である。今後、「フェアリー化合物」が、釧路の大地でもコシヒカリの生産を可能にする夢を見ている。

さらに、河岸教授は、寒冷地だけでなく広大な砂漠でも作物の栽培が可能になれば、将来迎える世界の食料危機からの救済や二酸化炭素削減などが実現できると、大きな野望を抱いていた。河岸教授の野望実現のためには、農場 (圃場) での試験が



図8 静岡県立大学に発生したフェアリーリング (2016年11月に稲井誠が撮影)

必要となる。そのため、静岡大学の藤枝圃場での試験 (畑に撒く) を可能にする、大量スケール (100グラム以上) での合成という無理難題をまた押し付けてきた。そこで、文献既知化合物の**22**のプロセス合成可能な改良合成法を開発し、図10に示したルートにて**22**の大量生産を可能とした。

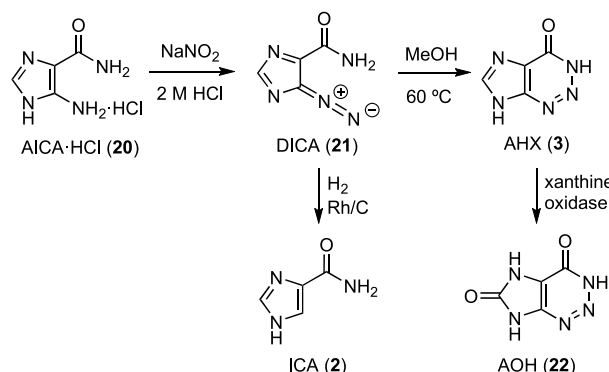


図10 FCs**2**および**22**の実用的な合成

図10に示したように、安価なAICA塩酸塩 (**20**: aminoimidazole carboxamide hydrochloride) に塩酸性条件下亜硝酸ナトリウム加えることでジアゾ化反応が進行し、DICA (**21**: diazoimidazole carboxamide) が得られた。続いて、**21**を精製することなくメタノール中で加熱することで、アミド窒素からの分子内環化反応が進行しAHX (**3**) が得られた。一方、DICA **21**のRh/C触媒存在下での水素添加反応により、窒素の脱離とプロトン化が進行しICA (**2**) が得られた。これら一連の反応は結晶化による精製が可能であり、一切のカラムクロマトグラフィーを必要としなかった。そのため、ウシオケミックス社の御前崎工場では、我々のルートを基にして100グラム以上での製造と静岡大学への無償供給を実施している。また、**3**から**22**への変換は高価なキサンチンオキシターゼによる酸化を実施していたが、静岡大学の徳山真治准教授のグループでは安価に変換可能な微生物菌体を天然より発見し、実用生産を実現している¹²⁾。

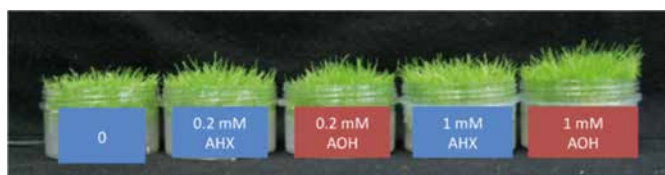


図9 FCs投与による芝の育成への影響

次の河岸教授からの無理難問は、 ^{13}C ラベルされたフェアリー化合物の合成である。生合成経路の確定と微量分析法の確立のため、三炭素のイミダゾール環へ二つ ^{13}C を導入した化合物が要求された。通常、イミダゾールは安価なため合成例は少ないが、我々はイミダゾール合成から開始した¹³⁾。図11に示したルートにて、入手可能な ^{13}C シアン化ナトリウムと ^{13}C オルトギ酸トリエチルを炭素源としてイミダゾール環合成を行った。まず、プロモ酢酸**23**と ^{13}C シアン化ナトリウムを反応させた後、酸性条件下でエチルエステル**24**に変換した。続いて、活性エステル**24**に酢酸存在下亜硝酸ナトリウムを作用させると、ニトロソ中間体を經由したオキシム導入反応が円滑に進行した。得られた**25**を水素添加反応によりアミンへと還元した後、エチルエステルのアンモノリシスにより環化前駆体の α -アミノニトリル**26**を合成した。 ^{13}C オルトギ酸トリエチル**30**とモノメチル尿素**31**から得られる**27**に**26**を酢酸存在下作用させると、第1級アミンからイミドへの付加の後、カルバミン酸の脱離とアミノ基の環化が進行してイミダゾール**28**が得られた。続いて、**28**のメチルカルボアミドの加水分解により ^{13}C ダブルラベルAICA(**29**)を合成した。その後、ジアゾ化反応によるDICA中間体を經由した $^{13}\text{C}_2$ -ICA(**32**)、 $^{13}\text{C}_2$ -AHX(**33**)への変換は非標識化合物の合成と同様の方法にて行った。現在、河岸研究室では、これら ^{13}C ダブルラベル化合物による「フェアリー化合物」の生合成経路の解明が進められ、重要な知見が得られている。さらに、 ^{13}C ダブルラベル化合物を標品とすることで、高感度LC-MSによる微量分析法も確立した。

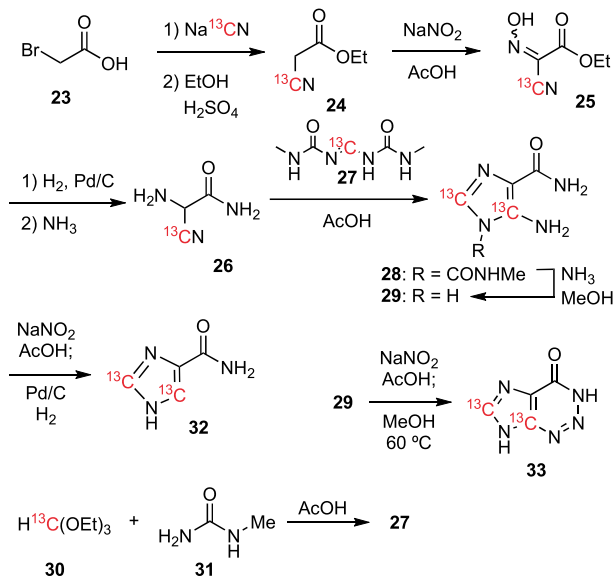


図11 ^{13}C ダブルラベルFCs**32**および**33**の合成

「フェアリー化合物」のAHX(**3**)やICA(**2**)が核酸前駆体のヒポキサンチンと類似構造を有するため、河岸教授は同様のプリン代謝に関わる新しい経路にて生合成されると推測していた。そこで、生合成中間体としてAHX(**3**)やICA(**2**)のリポシドやリポチド化合物の存在を推測して、また単離もしていない化合物の合成を強要してきた。当初、**2**や**3**のイミダゾール環の窒素原子への直接的なリボシル化を検討したが、不思議なことに反応は一切進行しなかった。そこで、安価なイノシン**34**からの変換を試みることにした。イノシン**34**の2位の炭素原子の除去は、既知

反応の改良により可能となった。図12に示したように、イノシンのリボースの水酸基をTBS基にて保護した後、**36**の1位窒素原子に2,4-ジニトロフェニル基(Ar-)を導入した。このように、電子求引性の置換基を導入することで**36**の2位へのエチレンジアミンの攻撃が進行して、ジヒドロイミダゾール**37**の脱離を伴い**38**が得られた。文献既知の方法¹⁴⁾では、本反応をDMF中で行うとジヒドロイミダゾールとジニトロフェニル基の脱離が一挙に進行することが報告されていた。しかし、我々は反応をTHF中で行うことで芳香環(Ar-)が保持された**38**が見出された。続いて、酸性条件下での**38**の一級水酸基のTBS基の選択的な除去と、酢酸存在下の亜硝酸ナトリウムとの反応によりAHX形成が進行した。この酸性条件下での窒素原子導入を伴う環化反応では、電子求引性の芳香環(Ar-)を有さない場合にはリボースの加水分解が進行したため、THF中でのエチレンジアミン処理の発見が有効となった。続いて、**40**にDMF中エチレンジアミンを作用させると、ジニトロフェニル基の除去が進行し**41**が得られた。**41**のTBS基をTBAFにより除去することでAHXリポシド(**43**)の合成が可能となった。一方、リポチドの合成にはリン酸エステルの導入が必須となる。そこで、**40**の一級水酸基にホスホロアミダイト試薬を用いて3価のリン原子を導入した後、TBHPにより5価のリン酸に酸化した。続いて、TBS基とベンジル基を順次脱保護することでAHXリポチド(**42**)を合成した。これら合成した**43**と**42**を指標とすることで、AHXリポシドやリポチドも天然に存在することが確認された。

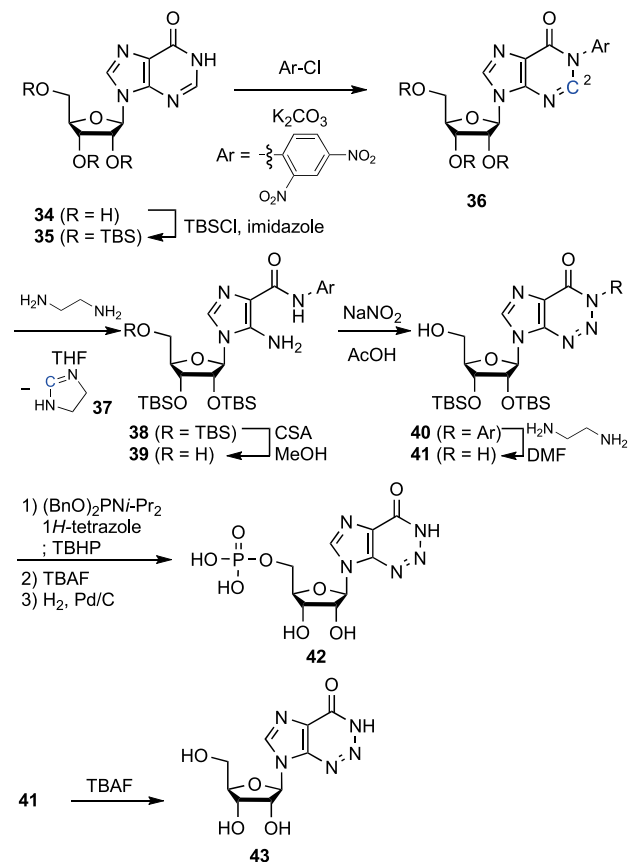


図12 リポシド**43**およびリポチド**42**の合成

次に、フェアリー化合物の生物活性の発現の詳細を明らかにするために、AHXプローブ分子の合成を試みた。また、当研究室での知見¹⁵⁻¹⁹⁾を基にして、プローブ合成ではアジドとアセチレンのHuisgen反応を利用することにした。AHXリポシド**40**の

級水酸基にリンカーのアルキルハライドとのアルキル化によるエーテル結合の形成を試みたが反応性が低かった。そこで、反応性を向上させたハライド**44**を反応させることにした(図13)。前述のアルコール**40**とハライド**44**との反応は*i*-Pr₂NEt存在下円滑に進行し、**45**が得られた。続いてジニトロフェニル基とTBS基の除去を行い、プローブ前駆体**47**を合成した。**47**とビオチンとTokyoGreen (TG) を導入したプロパルギルアミド**48**および**49**をHuisgen反応の条件に付すことで、水酸基を保護することなく連結反応が進行しプローブ**50**と**51**が得られた。現在、静岡大学の河岸グループと宇都宮大学の鈴木智大准教授(元河岸研究室所属)の下にてプローブ分子を用いたケミカルバイオロジー研究が展開されている。

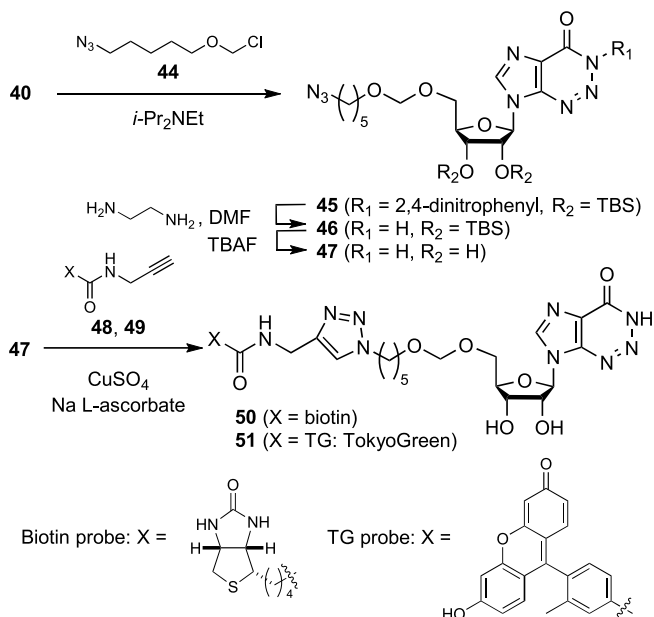


図13 AHXリポチドプローブ**50**および**51**の合成

04 | ドクササコ由来カイノイドの合成

北海道大学の学生時代より、恩師松本先生と白濱先生らのアクロメリン酸A (**5**)とB (**6**)は、一門の注目とプレッシャーの大きなプロジェクトであったが、著者は静岡での独立を機会に研究に着手した。日本中に広く生息するドクササコは誤って食すると、手や足などの抹消部分が火傷をおこしたように腫れ上がり、その症状が一週間以上続くドクキノコである(図14, 15)。



図14 ドクササコ(富山大学 紺野教授より)

また、長期に渡る症状のため二次的な因子により死に至るケースも報告されている。このドクキノコは古くから知られていたが21世紀を迎えた現在でも中毒症状の報告が存在する。



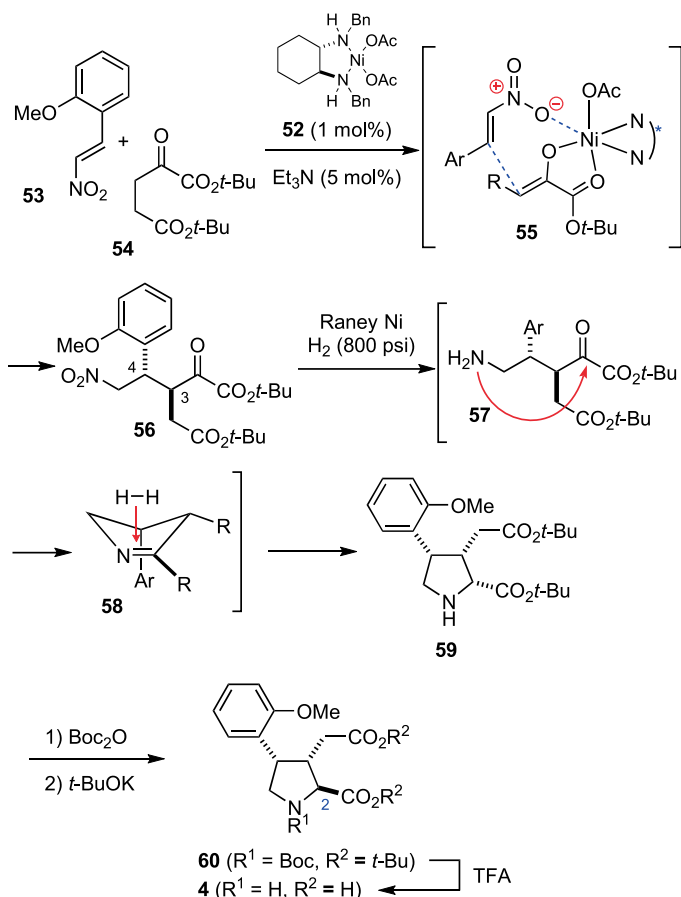
図15 ドクササコを食した人の手(北海道大学 白濱名誉教授より)

1980年代に、松本・白濱研究室では17 kgのドクササコから100 μgと70 μgのアクロメリン酸A(**5**)とB(**6**)を単離した²⁰⁾。現在のようにHPLCの進歩していない当時、最後はペーパークロマトグラフィーで精製したと聞いている。単離精製だけでも驚きであるが、クライオプローブやESI-Massのない時代には、我々には信じられない伝説の構造決定が達成された。当時、北海道大学理学部に導入されたばかりの500MHzのNMRを一週間独占することで一次元¹H NMRがやっと測定できた。その¹H NMRスペクトルの松本先生の神がかり的な解析と生合成の考察のみにより構造決定を行ったとも聞いた。そして、1986年に紺野勝弘先輩(富山大学教授)と橋本貴美子先輩(東京農業大学教授)による全合成の達成により構造が確定した²¹⁻²³⁾。当時、松本研究室の4年生としてその瞬間を垣間見たことが、著者が天然物化学を志すきっかけにもなっている。その後、白濱研究室では詳細な構造活性相関研究に展開し、堀川学博士(現在:サントリー生物有機化学研究所)の合成したMFPA(**4**)がカイノイド最強の活性を有することを明らかにした²⁴⁻²⁵⁾。しかし、カイノイドの中でカイニン酸の合成は非常に多くの報告があるが、強い活性を有するMFPA(**4**)とアクロメリン酸A(**5**)とB(**6**)の合成の報告例は殆ど存在しなかった。そこで、一門の不肖の弟子として、まず**4**の合成研究に着手した。

4-1. MFPA(**4**)の短段階合成

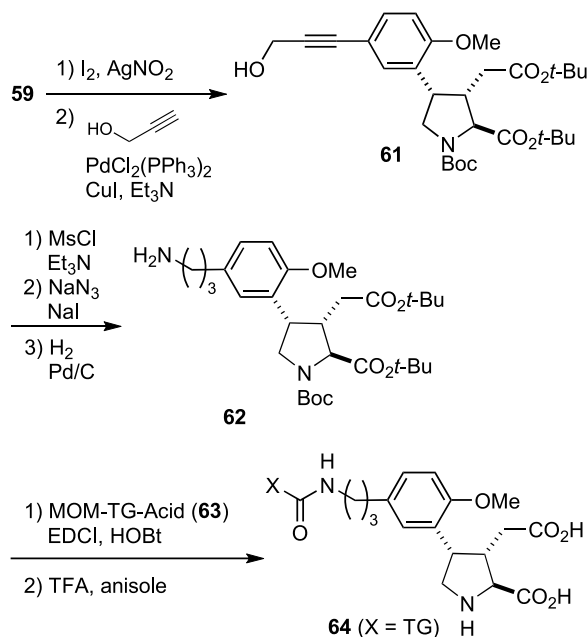
最強のカイノイドMFPA(**4**)の合成²⁶⁾では、当時の准教授である濱島義隆博士(現、本学薬学部・教授)が開発したニッケル触媒**52**²⁷⁾によるニトロオレフィンに対するMichael反応が鍵反応として大活躍してくれた。図16に示したように、*o*-アニスアルデヒドとニトロメタンから得られるニトロオレフィン**53**とケトグルタル酸エステル**54**の付加反応が1 mol %の**52**存在下円滑に進行して、**56**が高い*syn*選択性と光学純度にて得られた。本反応では、 α -ケトエステルの2つのカルボニル基にNiが配位しながらエノール化するためZ-エノラート**55**が形成する。さらに、ニトロ基の酸素原子も触媒**52**のNiに配位しながら**55**に示した遷移状態を経由して反応が進行するため、高い*syn*選択性

で**56**が得られたと考えている。これにより、カイノイド3、4位の立体化学の制御が高い光学純度にて可能となった。引き続き、**56**にラネーニッケル存在下高圧水素添加反応を行うと、ニトロ基の還元により生じた**57**のアミノ基と分子内のケトンとの脱水反応にてイミン**58**が形成され、続く還元的アミノ化反応の進行によりピロリジン**59**が得られた。この還元反応では、3、4位の嵩高いアルキル置換基を避けるようにβ面からの水素付加が進行し、**59**が単一化合物として得られた。また、**59**の2位の立体化学の反転は塩基性条件での異性化により可能となった。すなわち、**59**にBoc基を導入後、*t*-BuOKを作用させることで熱力学的に安定なβ面への異性化が進行し**60**が得られた。最後に、TFAを作用させてBoc基と*t*-Bu基を同時に除去し、MFPA(**4**)の合成を6段階・総収率62%で成功した。また、共同研究の北海道大学の酒井隆一教授らのグループにて、合成したMFPA(**4**)のマウスに対する致死量を確認したところ、KA(カイニン酸)を遥かに凌ぐ活性を有していた(KA: ED₅₀ = 0.28 nmol/mouse, MFPA: ED₅₀ = 0.046 nmol/mouse)。さらに、サントリー生命化学財団の島本啓子博士により**4**のイオンチャンネル型グルタミン酸受容体との親和性を測定したところ、KAとは強力にAMPAには弱く結合した。

図16. MFPA(**4**)の短段階合成

さらに、本合成ルートは効率的に**4**が得られることから、プローブ分子合成への展開も可能であった。我々の研究室では、生物活性を有する化合物の芳香環にリンカーを導入して末端の反応性の高いアミノ基にプローブユニットを導入する方法にて、広範なケミカルバイオロジー研究に展開してきており、今回のカイノイドでも同様の展開が可能となった。すなわち、**59**

に硝酸銀存在下ヨウ素を作用させると、メトキシ基のパラ位への位置選択的なヨウ素化が進行し、続くプロパルギルアルコールとの園頭反応により側鎖を導入し**61**を合成した(図17)。さらに、**61**の末端の一級水酸基のメシル化後、アジド基を導入した。このアジド基を利用したクリック反応による官能基化も可能であるが、今回は水素添加反応によりアジドとアセチレンの還元を行い**62**とした。このアミノ基には様々なプローブユニットの導入も可能であるが、今回は当研究室において実績を有する蛍光プローブのTGを導入した。MOM基で保護されたTGカルボン酸(**63**)を縮合後、TFAによりMOM基、Boc基と*t*-Bu基を同時に脱保護することで、MFPA蛍光プローブ**64**を合成した。また、共同研究を行っている本学の南彰講師と鈴木隆教授のグループにより**64**の海馬への移行も確認されている。

図17 MFPA蛍光プローブ(**64**)への変換

4-2 アクロメリン酸の合成

前述のようにMFPAの実用的な合成と蛍光プローブへの展開に成功したが、天然物そのものの合成に挑戦しなくては許されることはなかった。実は、このプロジェクトはサントリー生物有機化学研究所時代の上司の大船泰史先生(大阪市立大学名誉教授)から「アクロ(メリン酸類)をグラムで合成しなさい!」との発言(命令?)で始めることになっていた。これも無理難題であったが、北海道大学松本・白濱一門の総帥からの無理難題にも「ノー」ということは後輩である著者には当然許されなかった。1980年代後半から1990年代にかけての白濱グループの詳細なカイノイド誘導体とグルタミン酸受容体(GluR)との構造活性相関研究により、世間ではカイノイドはやり尽くされた研究と勘違いをされていた。しかし、当時は4種類しか知られていなかったGluRであるが、現在では20種類以上が知られており、それらの記憶、学習、痛みなどの疾患との関連も明らかにされつつある。しかし、天然からアクロメリン酸は極微量にしか単離できないことや、白濱研究室によってやり尽くされた研究と思われていたことから、レセプターレベルでの詳細な研究は皆無であった。我々は、MFPA合成にて濱島触媒によるニトロオレフィンへの付加と還元的環化を鍵反応とすることで、効率的なカイノイドのピロリジン環の構築が可能であることを明らかに

した。そこで、希少天然物のアクロメリン酸合成では、効率的ピリドン環合成により全合成が可能になると考えた。アクロメリン酸A(5)とB(6)の違いはピリドン環の置換様式である。反応性の高いピリドン骨格をメキシピコリン酸エステル65と66として合成することを想定すると、合成中間体は対称なジクロロピリジン(67)を出発原料とすることで効率的な合成が可能になると考えた。

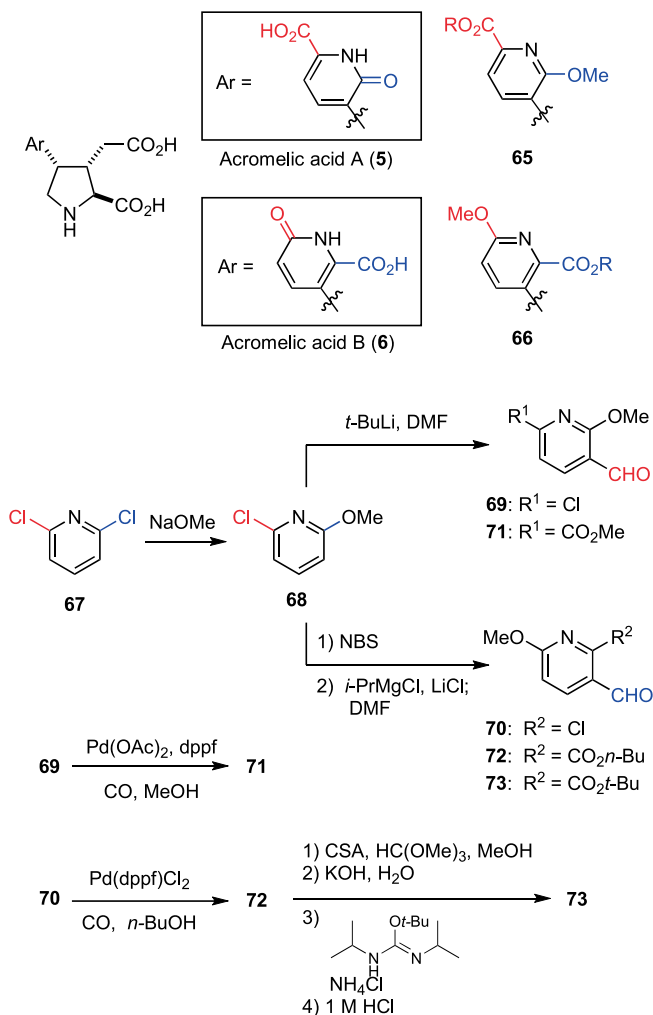


図18 アルデヒド71および73の位置選択的の合成

図18に示したように、対称な67にNaOMeを作用させると、モノ選択的な芳香族求核置換反応が進行し68が単一化合物として得られた。本芳香族求核置換反応では、67と68では電子求引性の塩素原子の反応性が大きく異なっていたため、68に対する過剰な置換反応は進行しなかった。さらに、このメキシピリジン68の5位もしくは3位に選択的な反応により両中間体の合成が可能となった。すなわち、アクロメリン酸Aを目指した合成では、*t*-BuLiにより68のメトキシ基のオルト位を選択的にリチオ化し、DMF処理することでアルデヒドを導入し69を合成した。一方、アクロメリン酸Bを目指した合成では、68にNBSを作用させることでメトキシ基のパラ位を選択的な求電子置換反応によりプロモ化した。続く*i*-PrMgClによる臭素との金属交換反応とDMF処理によりアルデヒド70を得た。このように、メキシピリジン68にオルトリチオ化と求電子置換反応を使い分けることで、アルデヒド69と70を位置選択的に合成した。続いて、69の塩素原子に対するPd触媒を用いたカルボニ

ル化反応により6位にエステル基を導入し、71を位置選択的に合成した。一方、立体障害の大きな70へのカルボニル化反応による*t*-Buエステル化は進行しなかったため、*n*-Buエステル72として合成した。72に対するHenry反応はニトロアルドールで生成するアルコールからのラクトン化と脱離、ニトロメタンの付加が進行したため、72を*t*-Buエステル73へと変換した。図19に示したように得られたアルデヒド71と73はニトロメタンとのHenry反応後、MsClとEt₃Nを作用させた脱水反応によりニトロオレフィン74と75得た。

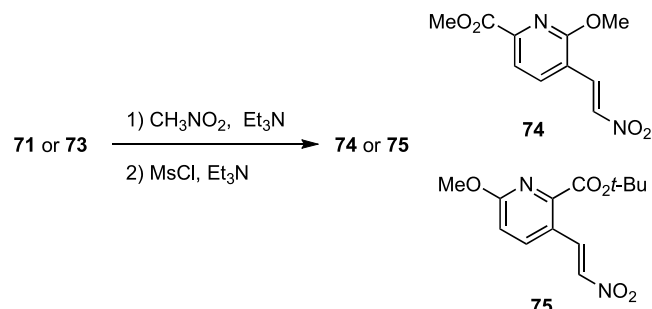


図19 ニトロオレフィン74および75の合成

さらに、図20に示したルートにてアクロメリン酸A(5)のピロリジン環を構築した。前述のMFPA合成の方法と同様に、ケトエステル76の74への不斉共役付加反応は5 mol%の濱島触媒52存在下にて円滑に進行して、高いエナンチオならびにジアステレオ選択性にて77が得られた。通常、ピリジンのような複素環は遷移金属触媒の配位子として働くことも多くエナンチオ選択性の低下を招く場合があるが、本反応はアルコール中でも進行するため触媒が被毒されることはなかった。ニトロケトン77にRaney Ni存在下での水素添加反応を行い、ニトロ基の還元、生じたアミノ基とカルボニル基の環化、さらに生じたイミン中間体への還元的アミノ化が一挙に進行し、78を合成した。当初、*t*-Buエステルの選択的除去を計画していたが、酸性条件ではDpmエステルが先に除去された。そのため、水素添加反応にてDpm基の除去の後、酸性条件にてメチルエステルへと

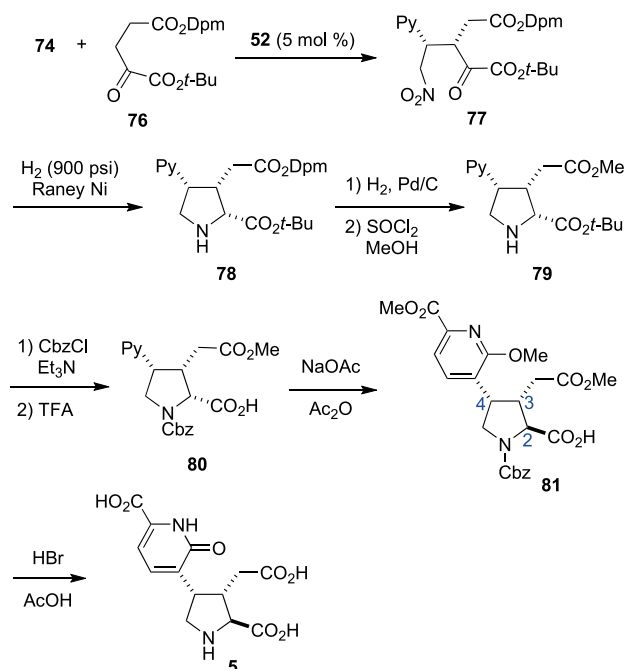


図20 アクロメリン酸A(5)の全合成

変換した。次の異性化では、ピロリジン窒素にCbz基を導入した後、MFPA合成と同様に t -BuOK作用させたところ、強塩基条件ではピロリジン環の分解が観測された。そこで、TFAにより t -Buエステルを除去しカルボン酸**80**とした後、活性エステルへと変換した。すなわち、**80**の2位のカルボン酸にNaOAcとAc₂Oを作用させて酸無水物とすることで、NaOAcによる α 位の水素の脱プロトン化とプロトン化が可能となり、穏和な条件にて異性化が可能となった。最後に、**81**にHBr / AcOHを作用させることで、すべてのメチル基とCbz基の脱保護を一挙に行った。さらに、水からの再結晶を行い**5**の全合成を達成した²⁸⁾。

図21に示したように、アクロメリン酸B(**6**)の合成も濱島触媒**52**による共役付加を鍵段階として行った。しかし、ニトロオレフィン**75**は**74**と比較してピロリジン6位の t -Buエステルの立体障害のため反応性に乏しかったため、ケトグルタル酸誘導体**76**では満足のいく結果が得られなかった。しかし、ケトエステルを**82**に変更したところ反応は円滑に進行し**83**が得られた。続く還元的環化反応では**83**は**77**と比較して環化後の還元時の立体選択性が低く、望みの**84a**と異性体の**84b**が3:2の比で得られた。**84b**は分離後、 t -BuOKを作用させることで望みの**84a**へと異性化が進行した。この際、**78**で見られた塩基性条件でのピロリジン環の分解は観測されなかった。続いて、**84a**のPMB基を除去後、第一級アルコールからカルボン酸への酸化をPhI(OAc)₂存在下の岩淵触媒(AZADO)により一段階にて行い**85**を合成した。最後に、アクロメリン酸A(**5**)の時と同様に、HBr / AcOHの条件にてメチル基、 t -Bu基、Cbz基の脱保護を一段階にて達成した。最後に、水からの再結晶によりアクロメリン酸B(**6**)の全合成に成功した。

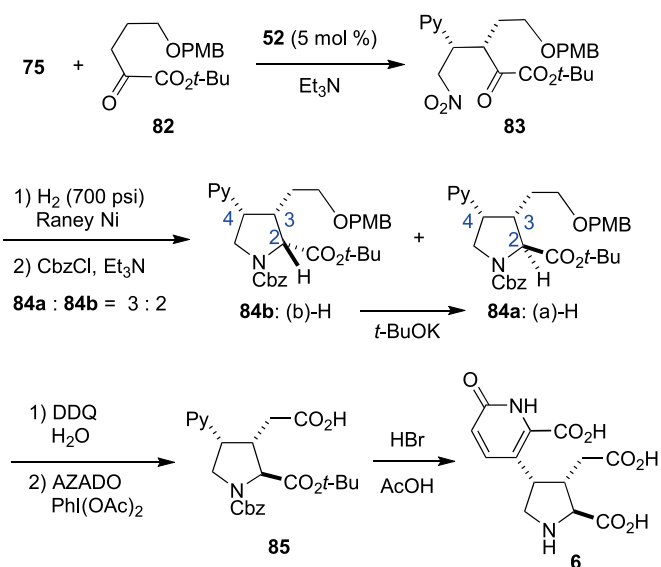


図21 アクロメリン酸B(**6**)の全合成

本合成では、同じ対称なジクロロピロリジン**67**の位置選択的官能基化反応よりアクロメリン酸A(**5**)は13段階36%、アクロメリン酸B(**6**)は17段階7%の収率にて全合成を達成した。また、本合成ルートは煩雑な反応や精製操作を必要としなかったためグラムスケールでの供給も可能となった。実際、静岡県立大学の医薬品製造化学教室の冷蔵庫には数グラムの**81**と**85**を保有している。また、アクロメリン酸の全合成により博士(薬学)を取得した大内仁志博士は現在当研究室の助教であり、**81**と**85**から天然物への変換は容易に可能である。さらに、合成した**5**と**6**

を標品としたLC-MSによる微量分析法の確立にも成功し、衛生化学分野に貢献することができた²⁹⁾。現在、試薬としての販売を検討中である。今後、多くのグルタメート研究者のお役に立つ事ができれば望外の喜びである。また、本合成の詳細は大村先生のノーベル賞受賞記念のCPBにて報告できた³⁰⁾。その論文の脚注に、"Dedicated to the memory of Dr. Takeshi Matsumoto, a close colleague of Dr. Ōmura."と入れて、松本先生の「対象を崩した美学」を実現した論文にて報告ができたことは不肖の弟子にとっては最高の喜びとなった。

05 | おわりに

本稿では、当研究室におけるキノコ由来の天然物の合成研究における最近の成果について紹介させて頂いた。「きのこ」は学生時代から憧れていた天然物であったが、すべて「縁のある」化合物を合成することができた。昔は、「モノトリ」(単離・構造決定)と「ものづくり」(全合成)は同じ研究室で行われていたが、研究手法の高度化に伴って別々の研究室で行うことが多くなっている。しかし、両者が車の両輪となることで、天然物化学を出発とするサイエンスの研究が推進されることは間違いない。また、著者は研究での「エトバスノイエス」との出会いだけでなく、ヒトとの触れ合いが楽しくて天然物化学の研究を続けている。

06 | 謝辞

本文中にも記載しましたが、スギヒラタケとフェアリー化合物のプロジェクトは静岡大学グリーン科学技術研究所の河岸洋和教授との共同研究です。このような素晴らしい天然物研究の機会をいただいた河岸先輩を初めとする元助教で現在宇都宮大学バイオサイエンス教育研究センターの鈴木智大准教授と静岡大学農学部の崔宰熏助教に感謝申し上げます。また、不安定なスギヒラの毒の単離は元スタッフの脇本敏幸博士(現北海道大学薬学研究院教授)の卓越した「技」により可能となりました。カイノイドの合成は当研究室の元准教授で現静岡県立大学薬学部教授の濱島義隆博士との共同研究です。濱島触媒の大活躍によりアクロメリン酸の実用的な合成が可能になりました。また、合成したMFPAの活性評価は公益財団法人サントリー生命科学財団の島本啓子博士と北海道大学大学院水産科学研究院の酒井隆一教授によって行われました。ご尽力に感謝いたします。さらに、本稿で紹介した合成はすべて静岡県立大学薬学部医薬品製造化学教室にて達成されたものであり、教室に所属したすべての学生とスタッフの努力の賜物であります。研究室の全てのメンバーにも御礼申し上げます。研究費として、農林水産省と独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物系特定産業技術研究支援センター(生研センター)「レギュラトリーサイエンス新技術開発事業」「イノベーション創出基礎的研究推進事業」、文部科学省創薬等支援技術基盤プラットフォーム事業とAMED創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業、科研費(基盤B 17H03973, 23390007, 新学術領域24102525, 26102736, 16H01160, 17H06402)の支援を受けました。最後に、「きのこ」の天然物研究に叱咤激励をいただいた恩師白濱晴久先生(北海道大学名誉教授)にも感謝申し上げます。

参考文献

- 1) T. Suzuki, Y. Amano, M. Fujita, Y. Kobayashi, H. Dohra, H. Hirai, T. Murata, T. Usui, T. Morita, H. Kawagishi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **73**(3), 702-709 (2009).
- 2) T. Kawaguchi, T. Suzuki, Y. Kobayashi, S. Kodani, H. Hirai, K. Nagai, H. Kawagishi, *Tetrahedron* **66**(2), 504-507 (2010).
- 3) T. Wakimoto, T. Asakawa, S. Akahoshi, T. Suzuki, K. Nagai, K. Kawagishi, T. Kan, *Angew. Chem. Int. Ed.* **50**(5), p. 1168-1170 (2011).
- 4) 河岸洋和, 菅敏幸, *化学と生物* **51**(3), 134-137 (2013).
- 5) 菅敏幸, 河岸洋和, *MEDCHEM NEWS*, **23**(2), 11-15 (2013).
- 6) T. Kan, T. Fukuyama, *J Syn Org Chem Jpn.* **59**(8), 779-789. (2001)
- 7) T. Kan, T. Fukuyama, *Chem. Commun.* **4**, 353-359 (2004).
- 8) T. Fukuyama, M. Cheung, C. -K. Jow, Y. Hidai, T. Kan, T. *Tetrahedron Lett.* **38**(33), 5831-5834 (1997).
- 9) J. -H. Choi, K. Fushimi, N. Abe, H. Tanaka, S. Maeda, A. Morita, M. Hara, R. Motohashi, J. Matsunaga, Y. Eguchi, N. Ishigaki, D. Hashizume, H. Koshino, H. Kawagishi, *ChemBiochem* **11**(10), 1373-1377 (2010).
- 10) J. -H. Choi, T. Ohnishi, Y. Yamakawa, S. Takeda, S. Sekiguchi, W. Maruyama, K. Yamashita, T. Suzuki, A. Morita, T. Ikka, R. Motohashi, Y. Kiriiwa, H. Tobina, T. Asai, S. Tokuyama, H. Hirai, N. Yasuda, K. Noguchi, T. Asakawa, S. Sugiyama, T. Kan, H. Kawagishi, *Angew. Chem. Int. Ed.* **53**(6), 1552-1555 (2014).
- 11) A. Mitchinson, *Nature* **505**(7483), 298 (2014). ; *C&E News*, 2014, vol. 92, p. 25.
- 12) J. -H. Choi, A. Kikuchi, P. Pumkaeo, H. Hirai, S. Tokuyama, H. Kawagishi, *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **80**(10), 2045-2050 (2016).
- 13) K. Ikeuchi, R. Fujii, S. Sugiyama, T. Asakawa, M. Inai, Y. Hamashima, J. -H. Choi, T. Suzuki, H. Kawagishi, T. Kan, *Org. Biomol. Chem.* **12**(23), 3813-3815 (2014).
- 14) L. D. Napoli, A. Messere, D. Montesarchio, G. Piccialli, *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1* **14**, 2079-2082 (1997).
- 15) A. Hiza, T. Tsukaguchi, T. Ogawa, M. Inai, T. Asakawa, Y. Hamashima, T. Kan, *Heterocycles* **88**(2), 1371-1396 (2014).
- 16) T. Asakawa, A. Hiza, M. Nakayama, M. Inai, D. Oyama, H. Koide, K. Shimizu, T. Wakimoto, N. Harada, H. Tsukada, N. Oku, T. Kan, *Chem. Commun.* **47**(10), 2868-2870 (2011).
- 17) T. Furuta, M. Nakayama, H. Suzuki, H. Tajimi, M. Inai, H. Nukaya, T. Wakimoto, T. Kan, *Org. Lett.* **11**(11), 2233-2236 (2009).
- 18) H. Fuwa, Y. Takahashi, Y. Konno, N. Watanabe, H. Miyashita, M. Sasaki, H. Natsugari, T. Kan, T. Fukuyama, T. Tomita, T. Iwatsubo, *ACS Chem. Biol.* **2**(6), 408-418 (2007).
- 19) T. Kan, Y. Kita, Y. Morohashi, Y. Tominari, S. Hosoda, T. Tomita, H. Natsugari, T. Iwatsubo, T. Fukuyama, *Org. Lett.* **9**(11), 2055-2058 (2007).
- 20) K. Konno, H. Shirahama, T. Matsumoto, *Tetrahedron Lett.* **24**(9), 939-942 (1983).
- 21) K. Konno, K. Hashimoto, Y. Ohfuné, H. Shirahama, T. Matsumoto, *Tetrahedron Lett.* **27**(5), 607-610 (1986).
- 22) K. Hashimoto, K. Konno, H. Shirahama, T. Matsumoto, *Chem. Lett.* **15**(8), 1399-1400 (1986).
- 23) K. Konno, K. Hashimoto, Y. Ohfuné, H. Shirahama, T. Matsumoto, *J. Am. Chem. Soc.* **110**(14), 4807-4815 (1988).
- 24) M. Horikawa, H. Shirahama, *Synlett* **1996**(01), 95-96 (1996).
- 25) K. Hashimoto, H. Shirahama, *Tetrahedron Lett.* **32**(23), 2625-2628(1991).
- 26) S. Sasaki, H. Suzuki, H. Ouchi, T. Asakawa, M. Inai, R. Sakai, K. Shimamoto, Y. Hamashima, T. Kan, *Org. Lett.* **16**(2), 564-567 (2014).
- 27) A. Nakamura, S. Lectard, D. Hashizume, Y. Hamashima, M. Sodeoka, *J. Am. Chem. Soc.* **132**(12), 4036-4037 (2010).
- 28) H. Ouchi, A. Asahina, T. Asakawa, M. Inai, Y. Hamashima, T. Kan, *Org. Lett.* **16**(7), 1980-1983 (2014).
- 29) N. Yoshioka, H. Ouchi, T. Kan, M. Yoshida, M. Nomura, *Food Hygiene and Safety Science* **58**(5), 241-245 (2017).
- 30) M. Inai, H. Ouchi, A. Asahina, T. Asakawa, Y. Hamashima, T. Kan, *Chem. Pharm. Bull.* **64**(7), 723-732 (2016).