

研究報告書

「多官能性三次元骨格群の構築と生体融合型物質生産システムの創製」

研究タイプ: 通常型

研究期間: 平成 25 年 10 月～平成 29 年 3 月

研究者: 大栗 博毅

1. 研究のねらい

三次元空間に複数の官能基を提示した剛直な多環式スキャフォールド群を自在に短工程で化学合成する分子技術を開発する。分子を形作る骨格や立体化学、機能発現に重要な官能基を系統的に多様化し、機能性分子の探索資源を現実的なコストで創出する迅速合成プロセスを開発する。多官能性スキャフォールドの複雑化・多様化・集合化・機能化を合理的に実現する革新的な合成論理・戦略の提案と体系化に取り組む。

本研究では、複数の共役二重結合を有するアキラルな多能性中間体を設計し、様々な骨格形成反応を系統的に実施する。三次元構造のバリエーションに富んだ多官能性スキャフォールド群を迅速(6-9工程以内)に合成する。

酵素を活用する分子骨格形成と化学合成による官能基変換を融合させた化学-酵素ハイブリッドプロセスを開発する。シンプルなアミノ酸誘導体から合成中間体を単離・精製せずに、複雑な多官能性骨格を迅速かつ柔軟に合成する。特異で強力な制ガン活性を発現する縮環アルカロイドを簡便に構築するハイブリッド合成プロセスを開発する。

主にアミノ酸で構成される多官能性天然物の母骨格に着目し、これらに自己集合性・分子認識・可視化ユニットを連結した単量体を合成する。単量体の集合化でナノ構造体を組み上げ、生体分子と特異的に相互作用する反応場を組み上げる。集合体の機能や振る舞いと単量体の三次元構造との相関についての知見を蓄積する。機能性ナノ構造体を構築する本アプローチの特徴は、骨格・立体化学を多様化した剛直なスキャフォールド群を活用する点にある。所望の機能性ユニット(自己集合性・分子認識・可視化等)をそれぞれ固有の空間配置で提示した単量体ライブラリーを構築し、集合化する。本研究では、生体分子との会合により、集合体の発光特性等が変化するセンサー機能を創発できるシステムの開発を目指す。さきがけ研究を基盤として、生合成・代謝経路と協働する生体融合型有用物質生産プロセスの開発へ発展させる。

2. 研究成果

(1) 概要

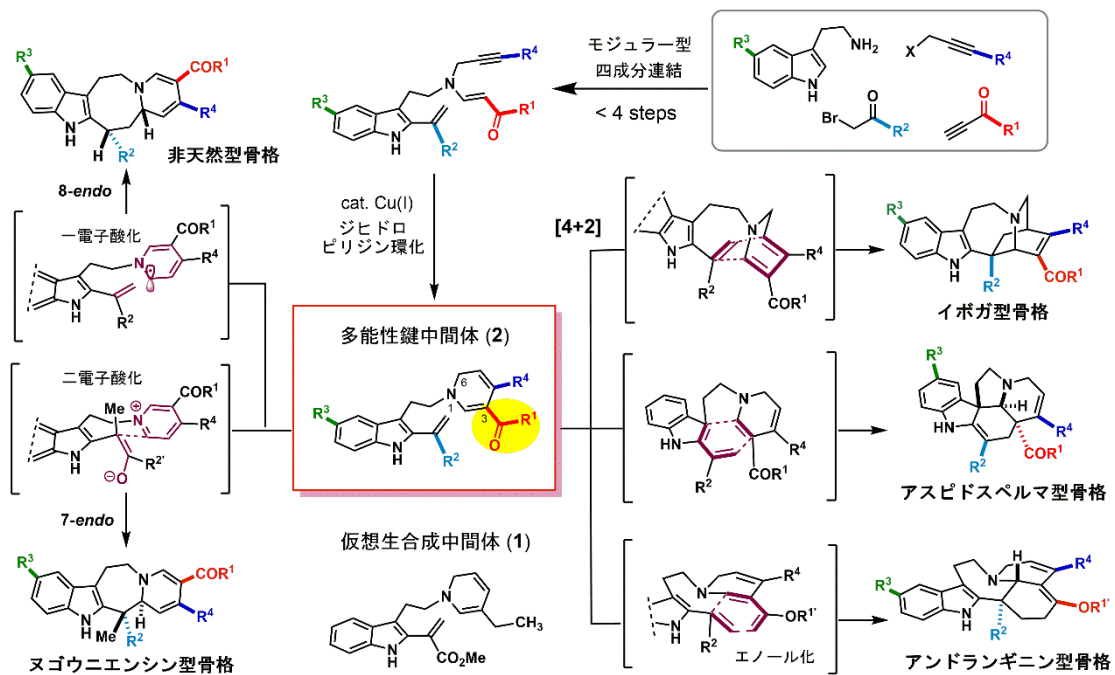
天然物の化学合成では、標的とした単一の骨格を構築するルートを開発するのが一般的である。これに対し、植物や菌類の二次代謝経路では、共通の中間体から分岐して、多様な骨格を持つ天然物の一群を生合成するプロセスが進化を遂げてきた。本研究では、この生合成戦略を模倣しつつ、分子骨格や sp^3 炭素立体化学、活性発現に重要な官能基を合理的に改変して生体機能性分子群を創出する“骨格多様化合成”を展開した(原著論文5)。複数の官能基を固有の空間配置で提示するスキャフォールドに分子認識/発光性ユニットを導入した単量体を合成し、それらの集積化によりナノサイズの反応場を構築した。代謝・生合成経路における分子変換の鍵となる官能基として“ニリン酸”に着目し、その分子認識と活性化が可能

なナノ構造体を設計・合成し、反応場として活用する基盤を整えた。

(2) 詳細

研究テーマ A: 多能性中間体を活用するインドールアルカロイド群の骨格多様化合成

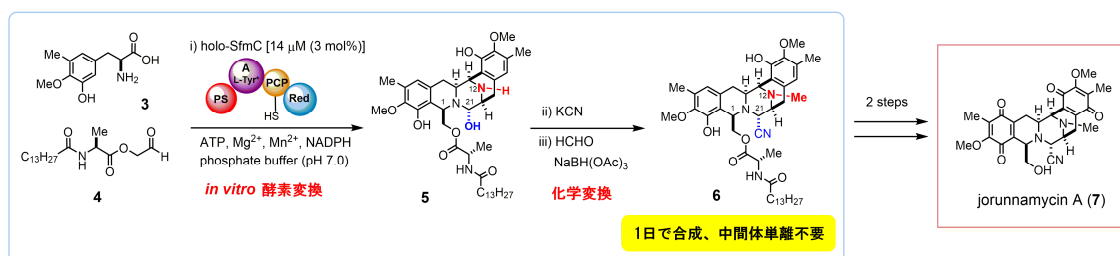
インドールアルカロイド群を生合成するプロセスの分岐点に位置する仮想中間体 **1** に着目した。中間体 **1** は短寿命と考えられたので、ジヒドロピリジンにカルボニル基を連結して安定化を図った多能性中間体 **2** を設計した。フラスコ内に発生させた **2** に潜在する多彩な反応性を合成化学的に制御するアプローチで、天然物の構造を簡略化することなく多環性骨格の作り分けを検討した。構築ブロックをモジュラー式に連結した後、カチオン性銅触媒で繊細なジヒドロピリジンを構築した。これにより、設計した多能性中間体 **2** を温和な条件下で手早く発生させ、分子内環化反応を検討した。三系統の [4+2] 型環化の位置・立体選択性を制御して、イボガノアスピドスペルマノアンドランギニン型骨格を構築した。また、ジヒドロピリジンの二電子／一電子酸化で発生させたピリジニウムイオン、炭素ラジカルを利用して、ヌゴウニエンシンノ非天然型の骨格をそれぞれ構築することができた。出発原料のトリプタミンから五系統のアルカロイド骨格をいずれも 6~9 工程以内で合成することに成功した。更に、[4+2] 型環化で構築した三系統の骨格からアンドランギニン、ビンカジフォルミン、(-)-カサランチンの全合成を達成した。生合成経路の分岐点に存在する鍵中間体に着目し、アルカロイド群の骨格の多様化、官能基導入、不斉合成を実現するアセンブリーライン合成法を開発した(原著論文2)。



研究テーマ B: テトラヒドロイソキノリンアルカロイドの化学-酵素ハイブリッド迅速合成

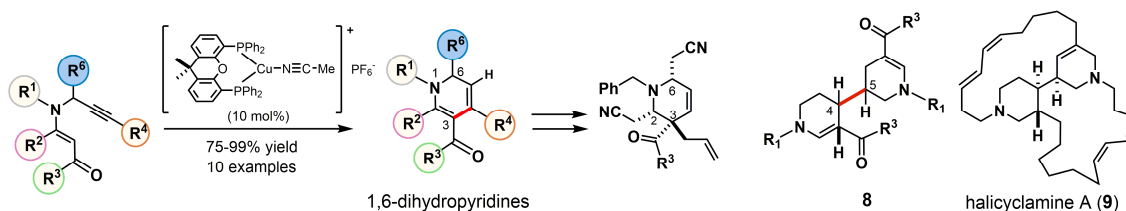
2 つのテトラヒドロイソキノリン環を含む五環性母骨格を共有するアルカロイド群は、顕著な

抗ガン活性を発現する。北大及川研究室で、五環性母骨格が非リボソーム依存型ペプチド合成酵素 SfmC により生合成される機構を解明した (*Nat. Chem. Biol.* **2010**, *6*, 408.)。天然型の基質を用いる系では脂肪酸側鎖の切断が困難で、酵素合成で構築した母骨格から天然物への変換は実現されていなかった。本研究では、脂肪酸側鎖の切断が可能な非天然型基質での酵素変換を実現し、ジオルナマイシン A (7) の化学-酵素ハイブリッド迅速合成法を開発した。チロシン誘導体 **3** の触媒的不斉合成法を確立し(原著論文 4)、長鎖脂肪酸を持つ非天然型基質群(4 等)を設計・合成した。酵素 SfmC で基質 **3**, **4** を反応させて **5** を構築した後、アミノニトリルを導入した。得られた二級アミンを単離せずにそのまま還元的 *N*-メチル化を施した。この工夫により、シンプルな合成基質 **3**, **4** からわずか一日で五環性の **6** を良好な収率(40%)で合成できた。エステル加水分解とキノンへの酸化を経て、**7** の簡便な迅速合成に成功した。中間体を単離せずに酵素合成と化学合成を融合し、新規抗ガン剤リード創製の基盤となる多官能性アルカロイド **7** の化学-酵素ハイブリッド迅速合成プロセスを確立した(論文投稿目前)。



研究テーマ C: 1,6-ジヒドロピリジンの系統的合成と官能基導入法/二量化反応の開発

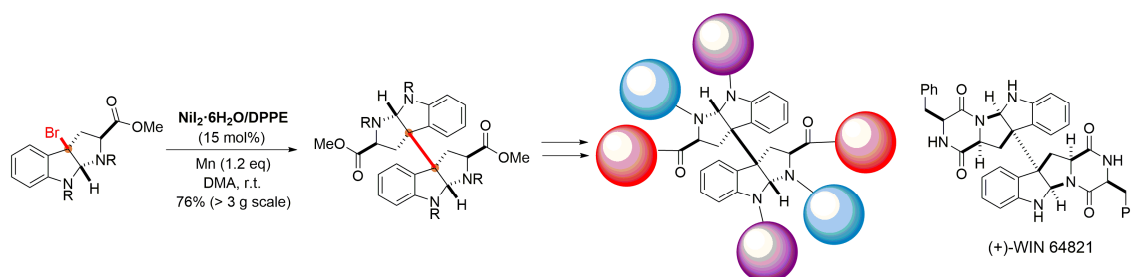
多彩な化学反応性を持つ 1,6-ジヒドロピリジンは、医薬・農薬や機能性分子の基本骨格であるピペリジンやテトラヒドロピリジンを合成する優れたプラットフォームとなる。ただし 1,6-ジヒドロピリジンは、一般に容易に酸化され不安定である。本研究では、単純な構築ブロックから容易に構築できるエンイン前駆体を設計し、6-*endo* 環化させる手法を開発した。カチオン性の銅触媒を用い、繊細な 1,6-ジヒドロピリジンを温和な条件で系統的に合成する手法を確立した(原著論文3)。1,6-ジヒドロピリジンの C2 / C6 位をシアノメチル化し、C3 / C5 位をアリル化する手法を開発した(論文投稿目前)。また、1,6-ジヒドロピリジンを活性化して、抗結核活性を持つハリシクラミン A (9) の母骨格 **8** を一挙に構築する二量化反応を見出した。



研究テーマ D: ビスピロリジノインドリン骨格の合成と機能性ユニットの連結

隣接する四級炭素でトリプトファンが二量化したビスピロリジノインドリン骨格に着目し、アミ

ノ酸で構成される生体親和性の高い多官能性スキャフォールドとした。本研究では、ニッケル触媒を活用する二量化反応を開発し、隣接四級炭素を構築してビスピロリジノインドリン骨格を効率的に合成した(原著論文1)。(+)–WIN 64821 を含む数種類の天然物を全合成し、本手法の実効性を示した。隣接する四級炭素を一挙に構築する化学変換は一般に困難であり、副反応が優先する系がほとんどである。本研究では触媒的な二量化反応を実現し、原子効率に優れた実践的な合成法を開発した。 C_2 対称型の多官能性スキャフォールドをグラムスケールで合成し、ニリン酸認識/発光性ユニットを連結した単量体群を設計・合成した。ニリン酸を有する生体分子の会合により発光特性が変化する反応場の創出と機能評価を検討する研究へ展開した。



3. 今後の展開

さきがけ研究で取り組んだ一連のアルカロイド群に限らず、共通中間体の環化様式の多様化により縮環骨格を作り分ける生合成経路が次々に解明されている。植物や菌類の化合物群生産ラインを模倣しつつ、合成化学を駆使して自在に拡張するアプローチは、他の二次代謝経路にも適用できる一般性を持つはずである。これまでの知見を活かし、多能性中間体の分子内環化様式を制御して骨格のバリエーションを創出する合成戦略を体系化する。化学者の想像力と直感を働かせて基質・中間体の構造や反応条件を合理的に改変し、生体機能性分子群を現実的なコストで創製する。今後は、天然物群の合成にとどまらず、生体高分子の部分構造を精密に模倣して骨格多様化合成する分子技術の開発へも研究を展開する。

さきがけ研究での試行錯誤を通じて最適化した分子設計指針に基づいて、ニリン酸を有する生体分子との相互作用を光でセンシングできる反応場を創出する。多点相互作用で生体分子を精密に分子認識し、官能基・位置・立体選択性を合理的に制御しうる分子変換システムの開発に繋げていく。

4. 評価

(1) 自己評価

生合成経路の分岐点となる多能性の中間体に着眼し、インドールアルカロイド群の骨格多様化合成プロセスを開発した(テーマ A)。3 種類の生合成類似[4+2]型環化付加と 2 種類の酸化/還元をトリガーとする環化反応により 5 系統の天然型・非天然型骨格をシンプルな原料からわずか 6–9 工程で作分けすることに成功した。二次代謝産物の生合成経路に学びつつ、合成化学を駆使して改変・拡張するアプローチを世界に先駆けて実現した。骨格多様化合成を展開していくためにポイントとなる成果を挙げる事ができた。北海道大学でのプレスリリースを皮切りに科学新聞一面等へ掲載され、*Synfact of the month* に選定され

た。国内外での招待講演や解説記事執筆の依頼等が増加し、確かな波及効果が認められた。

非天然型基質の酵素適用範囲を拡大しつつ、化学—酵素ハイブリッド合成プロセスを確立した(テーマ B)。酵素反応生成物を単離せずにそのまま合成化学的に変換していく工夫により、多官能性の含窒素五環性骨格を迅速に合成できた。天然物の半合成を除外すると、酵素合成と有機合成を融合したアプローチで複雑な天然物を構築した例は極めて少ないので、特徴のある合成プロセスを実現できた。

1, 6-ジヒドロピリジンを系統的に合成する手法を開発した(テーマ C)。1, 6-ジヒドロピリジンに潜在する多彩な反応性を合理的に引き出す知見を着実に蓄積できた。ハリシクラミン等の複雑な生理活性アルカロイド類を骨格多様化合成するための基盤を整えることができた。

代謝・生合成経路の中間体に共通する重要な官能基として“ニリン酸”に着目し、ニリン酸を有する生体分子を特異的に認識し、官能基・位置・立体選択的に分子変換する反応場の創製に着手した。多官能性スキャフォールドをグラムスケールで合成できる系を確立し(テーマ D)、分子認識部位と発光センサー部位の設計と合成を検討した。さきがけ研究での試行錯誤から、分子認識／発光部位を合理的に改良した。ニリン酸部位の活性化と分子変換を考慮して、反応場の分子設計指針を見定めることができた。

さきがけ研究に参画するまで、高分子化学や材料化学の研究者との交流はほとんどなかった。さきがけ研究を通じて研究の視野が格段に拡がり、数多くの貴重な教訓を得た。天然物化学と高分子化学や材料化学が融合した研究を今後展開していく上で大変貴重な経験を積むことができた。

(2) 研究総括評価(本研究課題について、研究期間中に実施された、年2回の領域会議での評価フィードバックを踏まえつつ、以下の通り、事後評価を行った)。

(研究総括)

様々な官能基が縮環骨格に組み込まれた多環性アルカロイド群を効率的に迅速合成するための新しいアプローチを提案した。共通中間体の電子状態や反応性を巧みに制御し、骨格のつくり分けを実現した。通常単一の標的分子を構築する従前の全合成研究とは異なり、骨格レベルでの構造のバリエーションを系統的に創出する分子技術の開発は、重要な研究成果である。合成した天然物類似化合物群の生物活性評価にとどまらず、分子の複合・集合構造を形成して、機能発現させる分子技術へ展開している。複数の sp^3 炭素で構成される剛直なアルカロイド骨格をスキャフォールドとして活用し、機能性ユニットと複合化した。配位結合や水素結合で組織化し、ナノサイズ反応場の創製を検討した。ニリン酸を有する生体分子を捕捉・変換する反応場については、さきがけ研究での試行錯誤の結果、当初の計画と比べ分子設計指針が大幅に改善された。多官能性スキャフォールドの合成と複合化は着実に進展し、反応場の形成と機能解析を進める研究の基盤が整った。複雑な天然物の合成を得意としてきた研究者が分子の組織化や機能創出に取り組む独自性の高いアプローチであり、今後の発展を期待する。

5. 主な研究成果リスト

(1) 論文(原著論文)発表

1. Mitsuhiro Wada, Takahisa Murata, Hideaki Oikawa, Hiroki Oguri*
 “A nickel-catalyzed dimerization of pyrrolidinoindoline scaffold: a systematic access to chimonanthines, folicanthines and (+)-WIN 64821”
Org. Biomol. Chem. **2014**, *12*, 298–306.
2. Haruki Mizoguchi, Hideaki Oikawa, Hiroki Oguri*
 “Biogenetically inspired synthesis and skeletal diversification of indole alkaloids”
Nature Chemistry **2014**, *6*, 57–64.
3. Haruki Mizoguchi, Ryo Watanabe, Shintaro Minami, Hideaki Oikawa, Hiroki Oguri*
 “Synthesis of multiply substituted 1,6-dihydropyridines through Cu(I)-catalyzed 6-*endo* cyclization”
Org. Biomol. Chem. **2015**, *13*, 5955–5963.
4. Ryo Tanifuji, Hiroki Oguri*, Kento Koketsu, Yuki Yoshinaga, Atsushi Minami, Hideaki Oikawa*
 “Catalytic asymmetric synthesis of the common amino acid component in the biosynthesis of tetrahydroisoquinoline alkaloids”
Tetrahedron Lett. **2016**, *57*, 623–626.
5. Hiroki Oguri*
 “Biomimetic assembly lines producing natural product analogs: Strategies from a versatile manifold to skeletally diverse scaffolds”
Chemical Record **2016**, *16*, 652–666.

(2) 特許出願

研究期間累積件数: 0 件

(3) その他の成果(主要な学会発表、受賞、著作物、プレスリリース等)

主要な学会発表

1. [国際(依頼講演)] Hiroki Oguri “Design and de novo synthesis of Natural Products and Their Variants” *Asian Chemical Biology Initiative 2017 Ho Chi Ming Meeting 2017.1.21. Rex Hotel Saigon, Ho Chi Minh, Vietnam*
2. [国際(招待講演)] Hiroki Oguri “Development of Chemical Assembly Lines of Natural Products and its Variants” The 2nd Yoshida Prize Symposium International Organic Chemistry Foundation(ICOF) 2016.11.4 リーガロイヤルホテル京都(京都市下京区, 京都)
3. [国際(招待講演)] Hiroki Oguri “Development of Artificial Assembly Lines of Natural

Products and its Variants” Asian 3 Roundtable on Nucleic Acids and Chemical Probe Research Hab Fukuoka 2016 2016. 9. 22-24. Hotel LEOPLACE Hakata, Fukuoka, JAPAN

4. [国際(招待講演)] Hiroki Oguri “Development of Chemical Assembly Lines for Skeletally Diverse Indole Alkaloids and its Variants” *Japan-Germany Workshop on “Molecular Technology” 2016. 3. 18. Wallstreet Hotel, Berlin, Germany*
5. [国内(招待講演)] **大栗博毅** “天然物の骨格を多様化する迅速合成プロセスの開発と創薬リード創製” **日本薬学会医薬化学部会主催 第34回メディシナルケミストリーシンポジウム 2016.10.01. つくば国際会議場(茨城県つくば市, 茨城)**

受賞
なし

解説記事等

1. 溝口玄樹, **大栗博毅**
“生合成経路を模倣したインドールアルカロイド群の骨格多様化合成”
有機合成化学協会誌 総合論文 74 巻, 9 月号, 854-865 頁(2016).
2. **大栗博毅**
“炭素鎖のコンフォメーションを制御するアセンブリライン合成”
有機化学ディビジョントピックス
化学と工業 68 巻, 4 月号, 357 頁(2015).
3. 溝口玄樹, **大栗博毅**
“インドールアルカロイドの骨格多様化合成—生合成に学ぶ分岐型合成戦略—”
化学と生物, 53 巻, 345-346 頁(2015).
4. **大栗博毅**, 溝口玄樹
“生合成経路を模倣した骨格多様化合成 -ニチニチソウに学ぶアルカロイド骨格の作り分け”
化学(化学同人 京都)69 巻, 5 月号, 12-17 頁 (2014).
5. **大栗博毅**
“生合成経路を模倣した天然物の骨格多様化合成”
天然物化学・生命科学ディビジョントピックス
化学と工業 67 巻, 2 月号, 147 頁(2014).

著書

1. **大栗博毅**
“カルボニル基(カルボキシルを含む)の保護と脱保護” 第15章



有機合成実験法ハンドブック 第2版
(有機合成化学協会 中井武 編集, 丸善)

プレスリリース

北海道大学プレスリリース 2013年11月25日 “日々草に学んで新薬の百花繚乱を目指す化学～多能性分子から多様なアルカロイド骨格の作り分けに成功(北海道大学理学研究院 准教授 大栗博毅)

<http://www.hokudai.ac.jp/news/2013/11/-pdf-42.html>

新聞記事

1. 北海道新聞(2013年11月25日)
2. 科学新聞(一面)(2013年12月13日)

化学ポータルサイトでの紹介

1. Chem-Station “生物に打ち勝つ人工合成?アルカロイド骨格多様化合成法”
<http://www.chem-station.com/blog/2013/11/post-581.html>

学術誌ハイライト記事

1. Erick M. Carreira and Simon Krautwald, “Biogenetically Inspired Synthesis of Indole Alkaloids” *Synfact* 2014, 10(2), 113. 主要論文2のハイライト記事が掲載された。更に主要論文2は, 編集委員 Erick M. Carreira 教授(ETH)らにより, *SYNFACT of the month* に選出された。
2. 岩崎 浩太郎 “多能性鍵中間体から5つのインドールアルカロイドの作り分けに成功!” *ファルマシア*(2014年8月号 810頁)に解説記事が掲載