

*myo*-イノシトール含有新規スフィンゴリン糖脂質  
CJP2 の立体選択的合成

【課題番号】 15590006

平成 15—平成 16 年度  
科学研究費補助金(基盤研究(C)(2))  
研究成果報告書

平成 18 年 3 月

研究代表者 白井隆一

奈良先端科学技術大学院大学  
物質科学教育研究センター 助教授

<はしがき>

「*myo*-イノシトール含有スフィンゴリン糖脂質 CJP2 の立体選択的合成」は平成 15 年度～平成 16 年度の科学研究費補助金（基盤研究（C）(2)、課題番号 15590006）の交付を受けて行った。研究組織、交付決定額（配分額）、研究発表および研究成果の内容は以下の通りである。

研究組織

研究代表者：白井隆一

(奈良先端科学技術大学院大学 物質科学教育研究センター 助教授)

交付決定額(配分額)

(金額単位：千円)

	直接経費	間接経費	合計
平成 15 年度	1, 900	0	1, 900
平成 16 年度	1, 700	0	1, 700
総計	3, 600	0	3, 600

## 研究発表

### (1)学会誌等

Diastereoselective Synthesis of D- and L-*myo*-Inositol 3,4,5,6-Tetrakisphosphates  
from D-Glucose *via* Dihydroxylation of (+)-Conduritol B Derivatives

Shintaro Saito, Rumiko Shimazawa, Ryuichi Shirai

*Chem. Pharm. Bull.*, **2004**, 52, 727-732.

## (2)口頭発表

### 国内学会

キラルジアミン-銅(II)錯体により触媒されるメゾ型 *myo*-イノシトール誘導体の不斉アシル化と PI-3,5-P2 の不斉全合成への応用

濱口 亜紀、白井 隆一

第1回次世代を担う有機化学シンポジウム

日本薬学会長井記念ホール

平成15年5月23日～平成15年5月24日

生理活性リン酸イノシトールの合成

齊藤 慎太郎、西川 明日香、白井 隆一

第38回天然物化学談話会

ホテル海の中道

平成15年7月16日～平成15年7月18日

メゾ型 *myo*-イノシトール誘導体の触媒的不斉非対称化とホスファチジルイノシトール 3,5-ビスホスフェート不斉全合成への応用

白井 隆一

イノシトール化学・ミニシンポジウム

有機合成化学協会中国四国支部・愛媛大学工学部

平成15年9月22日

光学活性 *myo*-イノシトール誘導体の合成

白井 隆一、齊藤 慎太郎、濱口 亜紀、西川 明日香

第45回天然有機化合物討論会

京都会館

平成15年10月6日～平成15年10月8日

シクロヘキセノール誘導体のジアステレオ選択的オスミウム酸化

齊藤 慎太郎、濱口 亜紀、Maksym A. Kolosov、白井 隆一

日本薬学会年会第 124 年会

ATC 大阪

平成 16 年 3 月 29 日～平成 16 年 3 月 31 日

ウミユリ類由来ガングリオシド CJP2 の合成研究

齊藤 慎太郎、白井 隆一

第 54 回日本薬学会近畿支部大会

神戸学院大学

平成 16 年 10 月 23 日

### 国際学会発表

Enantioselective Acylation of the *meso*-1,2,3-Triol Derivatives of *myo*-Inositol  
Catalyzed by CuCl<sub>2</sub>-Chiral Diamine Complex

Aki Hamaguchi, Asuka Nishikawa, Ryuichi Shirai

19th International Congress of Heterocyclic Chemistry (IHC19)

Colorado State University, U. S. A.

平成 15 年 8 月 10 日～平成 15 年 8 月 15 日

Diastereoselective Synthesis of *myo*-Inositol Derivatives *via* RCM Followed by  
Diastereoselective Dihydroxylation

Shintaro Saito, Maksym A. Kolosov, Ryuichi Shirai

The 9th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry

京都パークホテル

平成 15 年 11 月 10 日～平成 15 年 11 月 14 日

Enantioselective Acylation of the *meso*-1,2,3-Triol Derivatives of *myo*-Inositol  
Catalyzed by CuCl<sub>2</sub>-Chiral Diamine Complex

Aki Hamaguchi, Asuka Nishikawa, Ryuichi Shirai

The 9th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry

京都パークホテル

平成 15 年 11 月 10 日～平成 15 年 11 月 14 日

Dihydroxylation of Cyclohexenol Derivatives by Osmium Tetroxide

Shintaro Saito, Maksym A. Kolosov, Ryuichi Shirai

15th International Conference on Organic Synthesis

名古屋国際会議場

平成 16 年 8 月 1 日～平成 16 年 8 月 6 日

Synthetic Study of the Naturally Occurring Inositol Phosphoceramide

Shintaro Saito, Ryuichi Shirai

New Developments in Synthetic Organic Chemistry of Natural Products and Medicines

Kyoto Pharmaceutical University

平成 17 年 9 月 17 日～平成 17 年 9 月 18 日

Synthetic Study of the Naturally Occurring Inositol Phosphoceramide

Shintaro Saito, Ryuichi Shirai

2005 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies

Honolulu, Hawaii, U. S. A.

平成 17 年 12 月 15 日～平成 17 年 12 月 21 日

はじめに

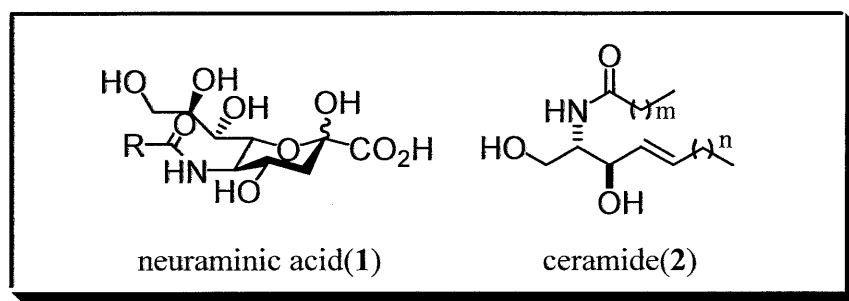


Fig. 1

ガングリオシドとは多数が糖鎖末端にシアル酸(1)を含有するスフィンゴ糖脂質の一種で、哺乳類ガングリオシドのほとんどは無置換脂肪酸とスフィンゴシン型長鎖塩基より構成されるセラミド(2)からなる(Fig. 1)。ガングリオシドは細胞膜の構成成分として脳や神経系に多く、哺乳類をはじめとする脊椎動物に多く存在しており、無脊椎動物においては棘皮動物にその存在が局在している。これらガングリオシドは細胞の相互認識、接着、分化、免疫、レセプター機能、神経機能など基本的かつ動的な生命現象に深く関与する生理活性生体成分である。このことからその生物機能の分子レベルでの解明が急がれ、近年においても脳や神経系の細胞膜に多く存在することから、神経機能に関する研究がなされており、以下の事が明らかとされた。

### 神経栄養因子様効果

ガングリオシドがニューロンの分化を促進する発見は、遺伝性ガングリオシド蓄積症に巨大神経突起が生じることに端を発し、ガングリオシドの神経線維進展作用が *in vitro*, *in vivo* で研究されてきた。武藤らは GM1 が NGF 受容体に結合して蛋白リン酸化を調節していることを明らかにし<sup>1</sup>、また Ledeen らは、細胞核内に存在して遺伝子発現に関わっている可能性を示唆しており<sup>2</sup>、最近になって神経栄養因子様効果の発現機構に迫る報告がなされている。

### 神経機能への関わり

ガングリオシドは神経系に多く存在していることから、神経機能の調節に関わっていると予想されていたが実体の解明は遅れており、最近になっていくつか新しい事実が明らかにされ、神経機能へのアプローチに光がみえてきた。1985年に Seifert らによって記憶や、学習の分子機構の促進にガングリオシドが働いているのではないかとの報告がなされ、その後加藤らと安藤らによって明確な促進作用が認められている<sup>3</sup>。また 1992年に安藤らによってコリン性ニューロンに特異的に存在するガングリオシドの構造決定がなされ、コリン性神経作用

への特定のガングリオシドが関わっていることを示し、分子機構が解析されつつある。他に古川らは GM2 ノックアウトマウスの作製に成功しガングリオシドの機能を調べる研究が始まっており、神経障害の特定が期待される<sup>4</sup>。

### 神経疾患と治療の可能性

Svennerholm らによってアルツハイマー病にガングリオシドが有効に作用するとの考えから治療が行われ<sup>5</sup>、またパーキンソン病のモデル動物のテストでの成果が Schneider らによって報告されている<sup>6</sup>。

このようにアルツハイマー病など新規医薬素材を目的として、またその機能解明のための基礎研究がなされているが、ガングリオシド類は微量成分であるために生化学的手法による入手が困難である。そこで生物活性評価サンプルや、その類縁体の供給のために、これまでガングリオシド類の合成法の開発が行われている。一般的なヒトガングリオシドの基本骨格は無置換の脂肪酸からなるセラミドを有しグルコース、ガラクトースを介し、この糖鎖末端にシアル酸が存在する。ガラクトースから分岐し、ガラクトサミド、ガラクトースが結合しているのが GM1 である(Fig. 2)。このような一般的ヒトガングリオシドにおいても複雑な構造を有しており、糖分子をつなぐグリコシル結合を目的の水酸基で構築し、しかもその立体を制御することは容易ではない。

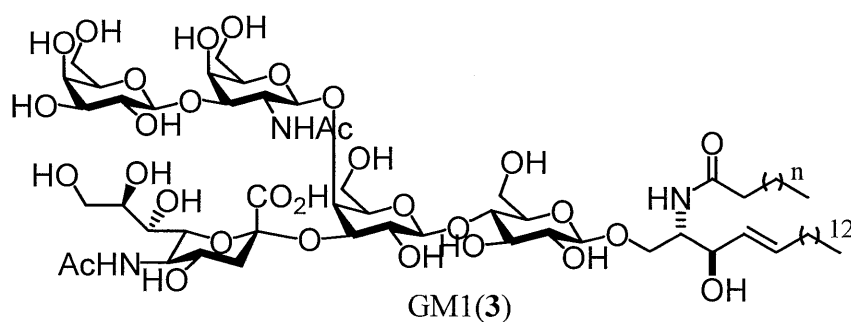


Fig. 2



## 棘皮動物より単離されたガングリオシド

哺乳類ガングリオシドの活性評価や、その合成法は確立されつつあるが、棘皮動物ガングリオシドにおいては、近年その存在が明らかとなってきており未だ合成法の確立がなされていない。棘皮動物は哺乳類と全く違う形態や生体を有するため、棘皮動物ガングリオシドは哺乳類ガングリオシドとは全く異なる化学構造と生物活性、機能が期待されている。これら棘皮動物の種類数は 6000 とも言われ、棘皮動物ガングリオシドは 21 世紀における新規医薬資源の宝庫であり、神経障害改善薬等の開発を目的に分離構造決定、生物活性の評価が行われている。以下の棘皮動物ガングリオシド類は樋口らによって単離、構造決定の報告がなされ、その棘皮動物ガングリオシドは哺乳類ガングリオシドよりも強い生理活性を示しており興味をもたれる<sup>7</sup>。

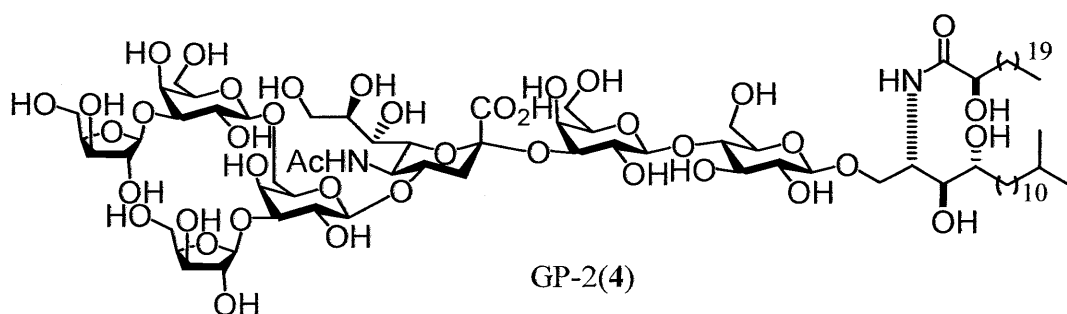


Fig. 3

イトマキヒトデ由来のガングリオシド分子種 GP-2 は  $\alpha$  オキシ脂肪酸からなるセラミドを有しグルコース、ガラクトース（ラクトース）を介し、シアル酸が結合している。この部分まではヒトガングリオシドと似ているが、糖鎖末端に位置するはずのシアル酸から更に糖鎖が伸びた興味深い構造を GP-2 はとっている (Fig. 3)。また GP-2 の生理活性においては、ラット胎児の培養大脳皮質細胞に対して  $1 \mu\text{g/ml}$  の濃度で、神経疾患への治験に用いられている哺乳類ガングリオシド GM1 を上回る強い生存維持作用を示している。

ムラサキヒトデ由来のガングリオシド GAA-7 は  $\alpha$  オキシ脂肪酸からなるセラミドを有しラクトース、ガラクトサミドを介し、2 個のしかも部分メチル化

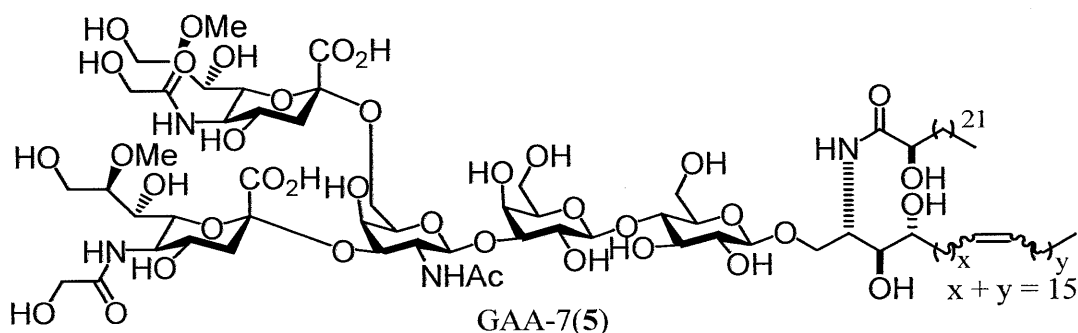
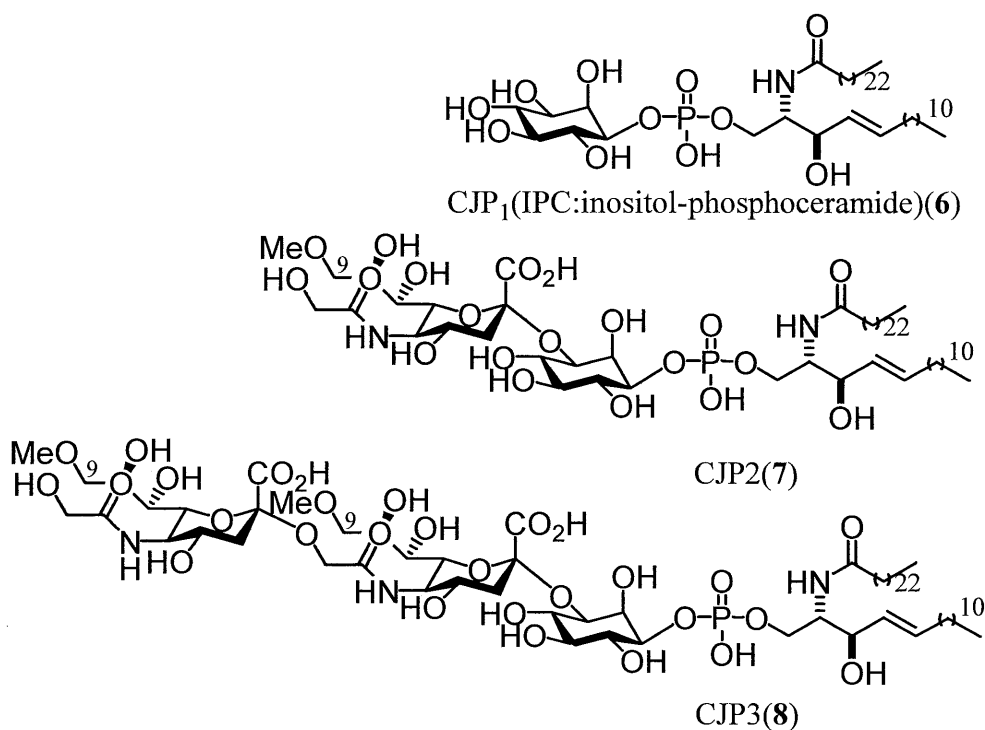


Fig. 4

された *N*-グリコシルシアル酸が結合する興味深い構造を有している(**Fig. 4**)。この GAA-7 はマウス神経芽腫瘍細胞 (Neuro2a) に対して  $0.01 \mu\text{M}$  のような低濃度においても神経突起伸展作用を示した。



**Fig. 5**

これら棘皮動物ガングリオシドの中でウミユリ類のニッポンウミシダ (*Comanthus Japonica*) から単離されたガングリオシド(CJP1(6), CJP2(7), CJP3(8)) は特に変わった構造を有する(**Fig. 5**)。これらの単離方法はニッポンウミシダから  $\text{CHCl}_3$ -MeOH により抽出した有機物の逆相、順相カラムクロマトグラフィーを経てガングリオシド類を得、最後に順相薄層クロマトグラフィーによって各成分へ分離している。構造決定は Dittmer-Lester 試薬<sup>8</sup> 及び改良型 Hanes-Isherwood 試薬<sup>9</sup> に陽性であることからリン脂質とされ、また各種スペクトルデータ及び、それぞれの成分やアルカリ分解により得られるフラグメントの質量分析によって決定された<sup>10</sup>。これらガングリオシドの基本骨格となる CJP1 は一般にイノシトールホスホセラミド(IPC)と言われる化合物で、IPC は植物や前口動物からは見出されているが後口動物からは最初の発見であった。IPC は菌類において成長不可欠な分子で、その菌類特有の生合成経路により合成されていることから詳細な生合成経路についての研究が多くなされている。このようにイノシトールの観点から見れば CJP2 や CJP3 は新規なスフィンゴ糖脂質で、イノシトールリン脂質類縁化合物と位置づけることができる。しかも CJP2, CJP3 は糖鎖末端にシアル酸を有することから、ガングリオシド類縁化合物と位置づけられており、そのシアル酸においても 9 位にメトキシ基を有する

*N*-グリコシル体と珍しく、セラミド部も無置換脂肪酸とスフィンゴ塩基から構成される事から、他の棘皮動物ガングリオシドとも相当異なっている。これら CJP2 や CJP3 はシアル酸、セラミド、リン酸化 *myo*-イノシトールと、それぞれが重要な生理活性生体成分で構築されており、ガングリオシドとイノシトールリン脂質のハイブリット化合物と見ることが出来る驚くべき化合物である。CJP2 やその代謝産物が生体内でどのような生物機能や生理活性を有するか興味を持たれ、これらを用いた分子機能の解明や、創薬基礎研究への展開も期待される場所である。しかしガングリオシドは微量成分である為に生化学的手法では入手が極めて困難で、そのため生物活性評価用サンプルの供給すら容易ではなく、このことが現在解決しなければならない大きな問題として存在している。そこでこの問題の解決に向け、分子内にシアル酸と *myo*-イノシトールという複雑な分子を有するガングリオシド(CJP1, CJP2)の合成を指向した方法論の開拓を行った。

### CJP2 を指向した合成戦略

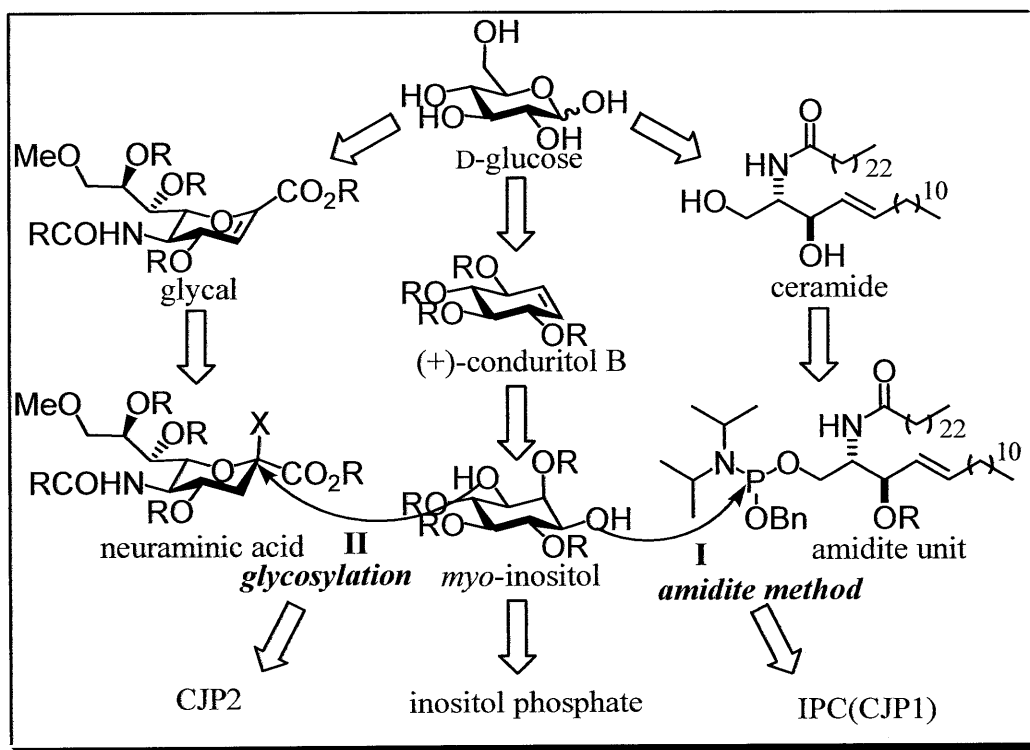


Fig. 6

CJP2 をそれぞれにおいても重要な生理活性生体成分である、シアル酸 (neuraminic acid)、セラミド (ceramide)、*myo*-イノシトール (*myo*-inositol) と三つのフラグメントに分割した。先ずこの三つのフラグメントの合成法を確立すれば、

*myo*-イノシトールとセラミドのアミダイト法によるカップリングにより IPC を、また *myo*-イノシトールとシアル酸のグリコシル化反応、その後セラミドの導入により目的の CJP2 の合成が行えると考えた。そこで核となる *myo*-イノシトールフラグメントの合成は、種々のリン酸化イノシトール誘導体を合成可能とする方法論を開発すれば、*myo*-イノシトールの目的の水酸基にセラミドとシアル酸の導入できると考えた。またシアル酸フラグメントは *myo*-イノシトールとのジアステレオ選択的なグリコシル化反応を考慮し、様々なグリコシルドナーに変換が容易なシアル酸グリカールを目的化合物とした。セラミドフラグメントはセラミドを合成できればアミダイトユニットへの変換は容易に行えると考えられる。またこれらすべてフラグメントを安価で容易に入手可能な D-グルコースから合成し CJP2 を得れば、その方法論においても合成化学的に興味を惹く (Fig. 6)。

## myo-イノシトール誘導体の合成戦略

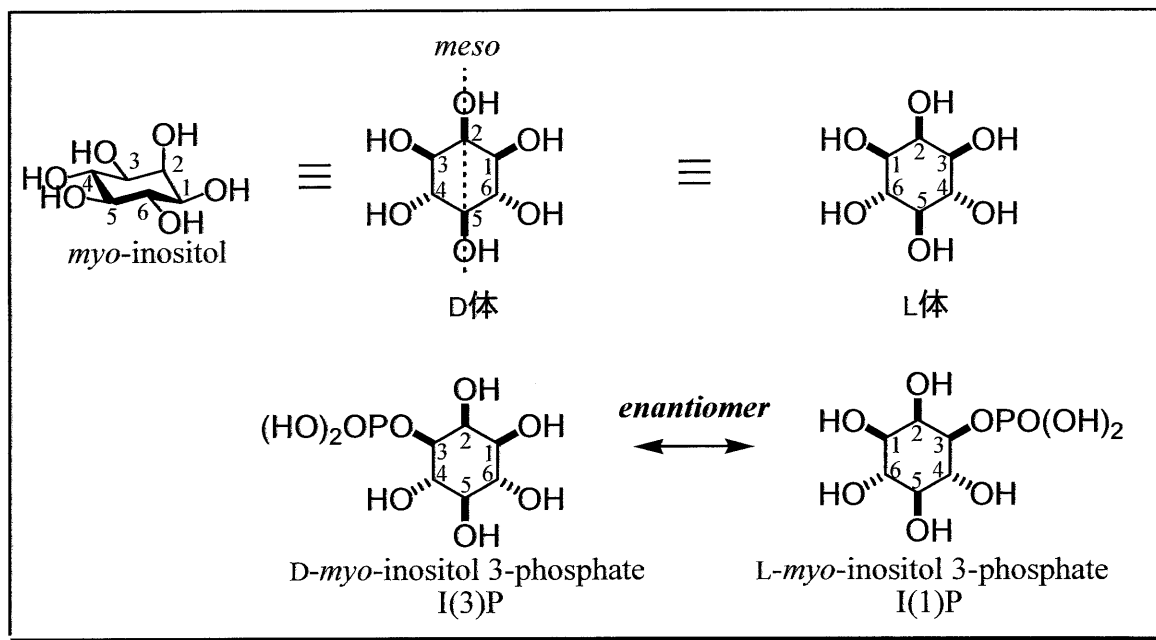


Fig. 7

まず *myo*-イノシトールの基本的構造について注目すると、無置換の *myo*-イノシトールは対称面を有する *meso* 体で光学不活性な分子である。しかし D 体、L 体の 3 位をリン酸化した化合物は、分子内の対象性が崩されるために光学活性な化合物となり、それぞれ I(3)P と I(1)P は鏡像体の関係にある。リン酸化イノシトールの略称は D 体のナンバーリングを用いるため I(3)P と I(1)P が鏡像体であることは分かりにくい、分子内の 1 位と 3 位、または 4 位と 6 位にプロキラルな水酸基が存在している (Fig. 7)。このように *myo*-イノシトールは 6 つの立体の制御された水酸基を有し、しかも分子内に対称面を有する光学不活性な化合物であるために、如何にして光学活性なリン酸化イノシトール類を得るかが重要な合成戦略となる。

無置換の *myo*-イノシトールは安価で入手が容易であるため、出発原料として用いれば *myo*-イノシトール骨格の 6 つの水酸基の立体の制御を避けることが出来る。しかしながら光学活性な *myo*-イノシトール誘導体の合成を行えば、必ずどこかの段階で *myo*-イノシトールの  $\sigma$  対称性を非対称化し、光学活性体としなければならない。これまでの *myo*-イノシトールを出発原料とした光学活性なリン酸化イノシトール誘導体の合成法は、合成の途中段階で不斉補助基を導入した光学分割を行う例が多い<sup>11</sup>。しかしながら光学分割を行えば確実に収量は半減するため、効率的に目的の光学活性なリン酸化イノシトールを得ることが出来ず、また光学分割を行うための不斉補助基や結晶化条件を見つけ出すのも

容易ではない。

光学分割を行わない合成法として、Ferrie 転移を鍵反応とした合成が Prestwich らによって報告されているが、中間体において *myo*-イノシトールの 3 位水酸基への選択的な置換基の導入に成功していない(Scheme 2)<sup>12</sup>。また *myo*-イノシトールの水酸基の立体を制御して構築するために多段階が必要であり、未だ改善の余地が見られる。

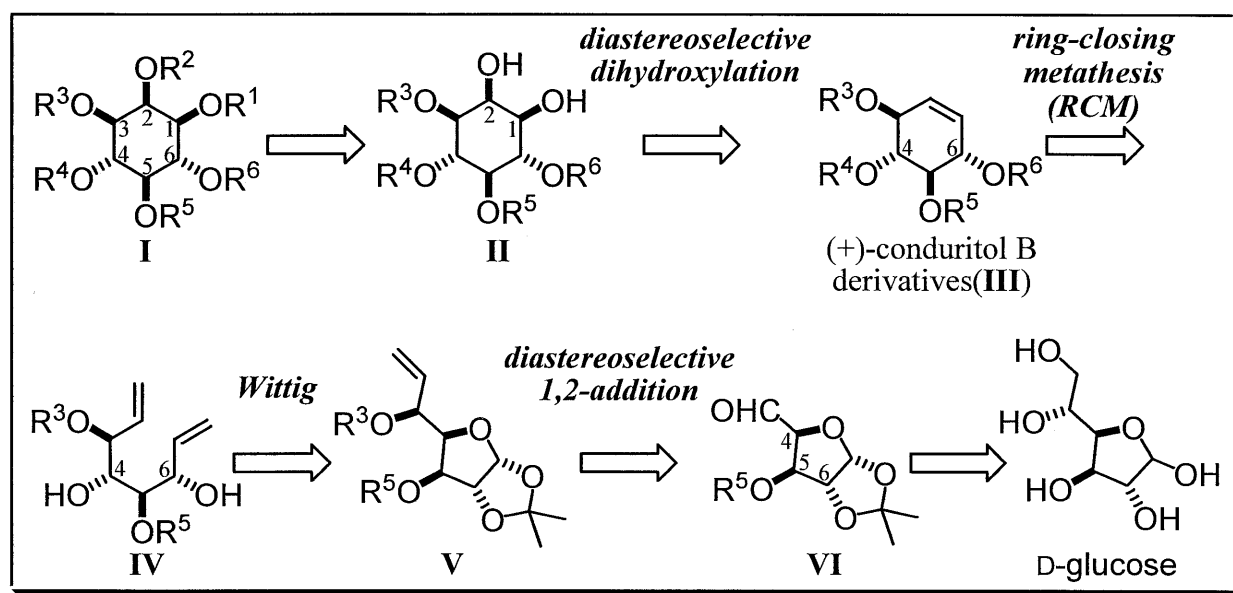
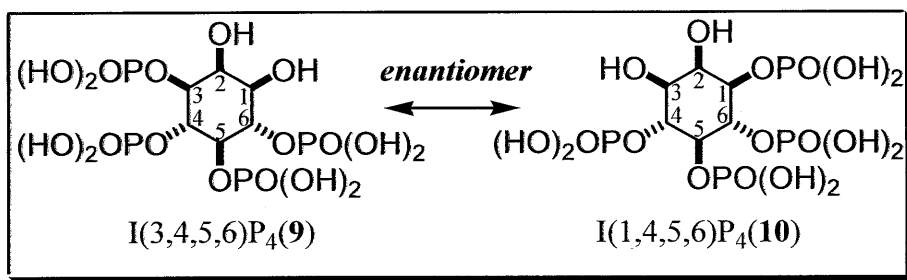


Fig. 8

そこでキラルな *myo*-イノシトール誘導体を効率良く得るために、光学不活性な *myo*-イノシトールを出発原料とせず、光学活性な化合物を出発原料として用い、*myo*-イノシトールの 6 つの水酸基の立体を制御して構築する合成法を開発する。また *myo*-イノシトール骨格の構築と同時に、目的の水酸基へ所望の置換基を簡便に導入できる方法論を確立し、容易に目的の光学活性な *myo*-イノシトール誘導体の合成を可能とする。これらの条件を満たした逆合成解析を以下に示すと、まず *myo*-イノシトールの 2 位水酸基は他の水酸基に比べ反応性が低く<sup>13</sup>、それを利用した I の 1 位と 2 位水酸基の識別が可能である。II の 1,2-ジオールは(+)-コンヅリトール B 誘導体(III)のジアステレオ選択的酸化により構築し、III は 1,7-ジエン(IV)の Grubbs 触媒を用いた閉環メタセシス反応(RCM)により得る。4 位と 6 位水酸基の区別は、この合成中間体(+)-コンヅリトール B 誘導体(III)において 6 位水酸基がアリル位であることや、4 位水酸基が立体的に込み入っていることから反応性に差が生じると考えた。次に 1,7-ジエン(IV)の構築として一方のオレフィンがアノマー位での Wittig 反応により、他方のオレフィンが D-グルコースから誘導したアルデヒド(VI)へのジアステレオ選択的 1,2-付加反応により導入することとした。この合成法は安価

な D-グルコースを出発原料とし、段階的に保護基を導入することで *myo*-イノシトールのすべての水酸基を識別しつつ、骨格の構築を行うことで、種々のイノシトール誘導体の合成に適応できる方法論になる(**Fig. 8**)。

### 合成法確立に向けた標的化合物

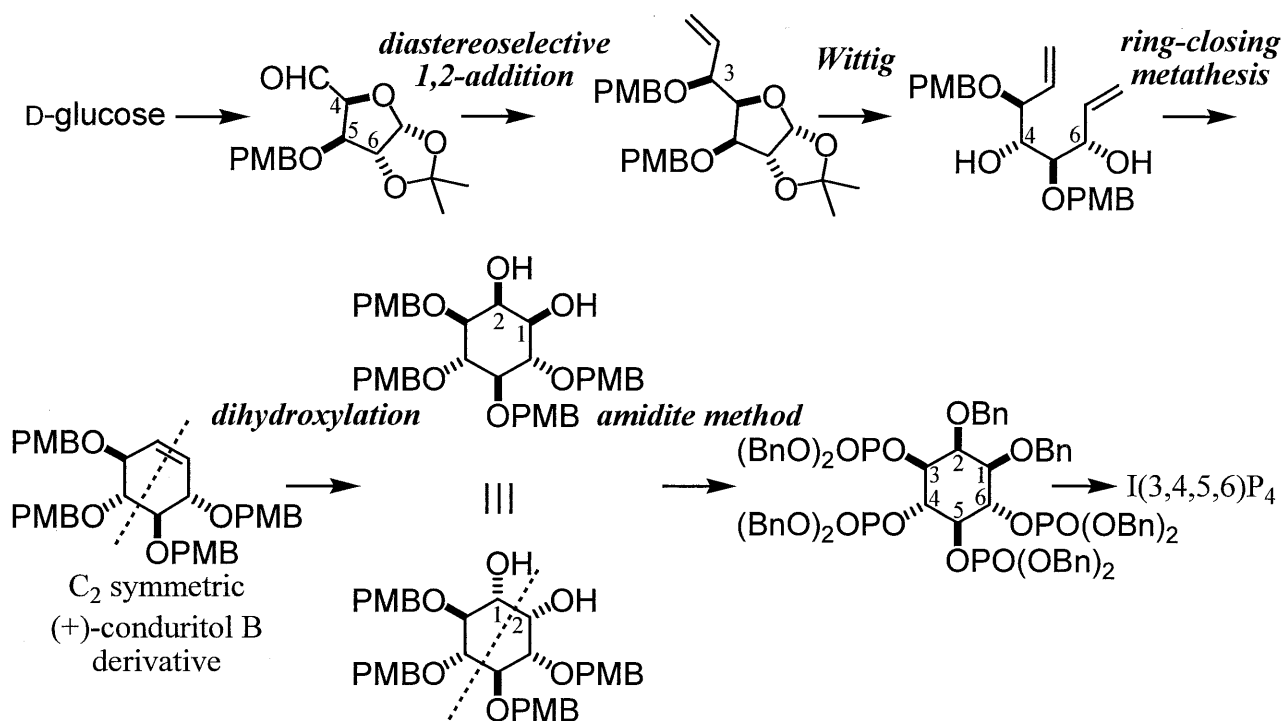


**Fig. 9**

*myo*-イノシトール誘導体の合成法の確立を行うにあたり、種々のリン酸化 *myo*-イノシトールの中で I(3,4,5,6)P<sub>4</sub>(**9**)と I(1,4,5,6)P<sub>4</sub>(**10**)を合成標的化合物として選んだ。この2つの化合物はナンバーリングからは全く別のリン酸化イノシトールに見えるが鏡像体の関係にある(**Fig. 9**)。この2つの化合物を標的化合物として選んだ理由の1つは、同じ出発原料から同合成法を経ても両鏡像体が得られれば、その合成法の柔軟性を示すことが出来る。もう1つはそれぞれ両鏡像体のリン酸化イノシトールが生体内で全く別の作用を示すことが明らかとなっており、それぞれ注目されているからである。**9** はごく最近になってセカンドメッセンジャーの機能が明らかにされつつあり、例えばカルシウムイオン介在による塩素イオンの放出の阻害し、欧米で最も発症頻度の高い遺伝性疾患の嚢胞正性線維症との関連がある。それに対し**10** はヒト乳ガン細胞で *insulin-like growth factor-1*(IGF-1)により誘導されるチミジンの取り込みを阻害しその生育を制御するが、**9** にはその作用は四分の一しかない。また**10** は核内プロセスにおいて遺伝子発現を制御している可能性があり、抗癌剤としての発展の可能性もある<sup>17</sup>。このような興味ある活性や機能を有する両鏡像体 I(3,4,5,6)P<sub>4</sub>(**9**)と I(1,4,5,6)P<sub>4</sub>(**10**)を標的化合物として、所望の水酸基に目的の置換基を導入可能とする *myo*-イノシトール誘導体合成法の開発を行った。

## I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> の合成

### 合成戦略

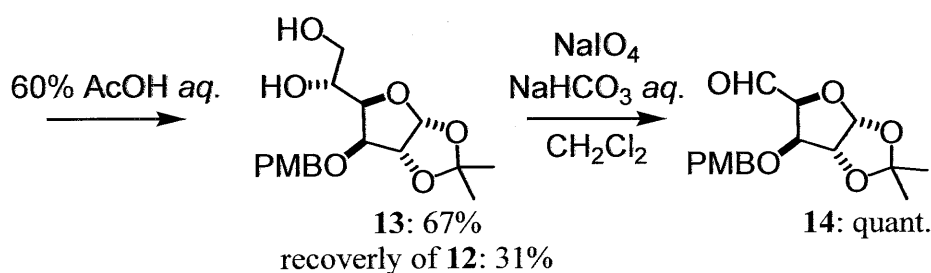
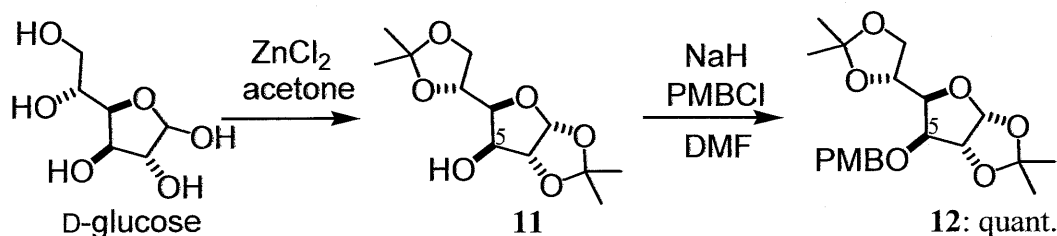


**Scheme 1**

I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> の合成戦略として、まず D-グルコースから既知の方法を用いて *myo*-イノシトールの 5 位となる水酸基を 4-メトキシベンジル(PMB)基で保護したアルデヒドへと誘導する。その後ジアステレオ選択的 1,2-付加により 1 つ目のオレフィンを導入しつつ、目的の立体配置を有する *myo*-イノシトールの 3 位となる水酸基を構築し、次にアノマー位での Wittig 反応により 2 つ目のオレフィンを構築し、1,7-ジエンを得る。得られた 1,7-ジエンの Grubbs 錯体を用いた閉環メタセシス(RCM)反応により(+)-コンヅリトール B 誘導体を得、続いてこの化合物の水酸基をすべて PMB 基で保護することで C<sub>2</sub> 対称とする。C<sub>2</sub> 対称な(+)-コンヅリトール B 誘導体の四酸化オスミウム酸化を行った場合、オレフィンに対して上下どちらの面からの酸化が起こっても単一の *myo*-イノシトール誘導体を得られる。その後 1,2 位水酸基のベンジル(Bn)化、PMB の脱保護、続くアミダイト法によりリン酸基を導入し、最後にすべての保護基である Bn 基をパラジウムを用いた加水素分解反応により脱保護することで、目的の I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> を得る(Scheme 1)。

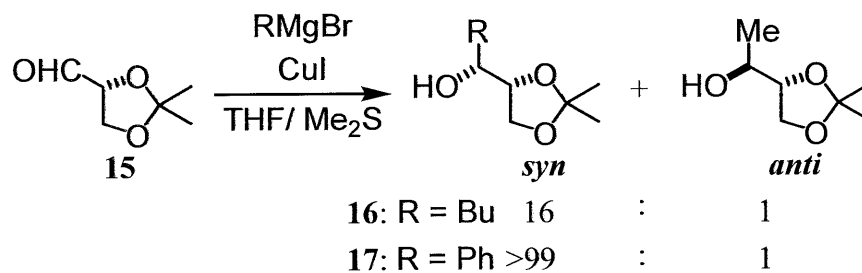


アルデヒドへのジアステレオ選択的 1,2-付加反応



Scheme 2

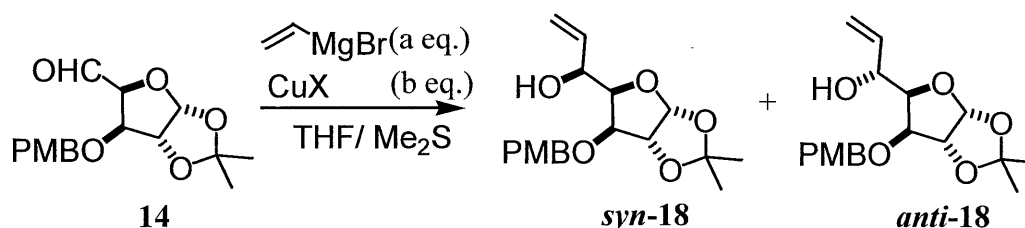
D-グルコースを出発原料として既知の方法<sup>15</sup>により市販されているジアセトングルコース(11)へ誘導し、*myo*-イノシトールの5位となる水酸基を水素化ナトリウムを用いてPMBで保護を行った。その後60%酢酸を用いたアセタールの脱保護、得られたジオール体(13)の過ヨウ素酸酸化を経てアルデヒド(14)を合成した(Scheme 2)。



Scheme 3

14のようなカルボニル基の $\alpha, \beta$ 位にそれぞれアルコキシ基が存在する場合はキレート構造が5員環、6員環のどちらの遷移状態も取り得るため立体選択性の発現は一般的に容易ではない。しかし $\alpha, \beta$ 位にアセタール酸素を有する化合物の1,2-付加反応において、SatoらはTHF中で有機銅試薬を用い高いジアステレオ選択性で*syn*-16,17が得られることを報告している(Scheme 3)<sup>16</sup>。その高いジアステレオ選択性の発現理由として、有機銅試薬と溶媒にTHFを用いることで5員環キレーション構造が優先的に生成する為だと考えている。そこでアルデヒド(14)の場合でも同様の5員環キレーション構造を形成すれば、目的の*syn*-付加体を優先的に得られると考え、用事調整した有機銅試薬を用い反応を

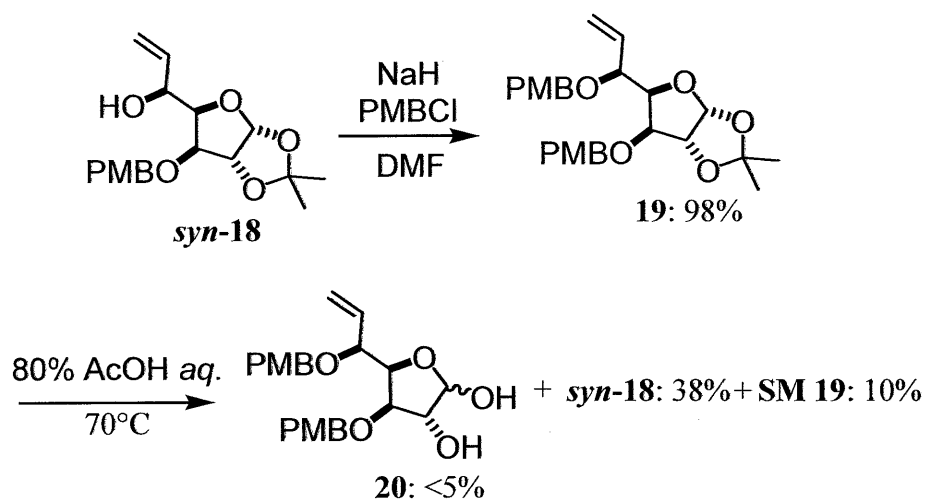
行った。そうしたところ所望の *syn*-付加体のみを 72%の収率[クロマトで *anti* 体の検出は出来なかった]で得ることができたが(entry 2)、原料回収が見られたので反応時間、反応温度、試薬の当量などの検討を行ったが収率は向上しなかった(entry 3-8)(Table 1)。一部原料回収がみられるものの目的の *syn* 付加体のみを選択的に合成し、しかも Table 1, entry 1,2 において数グラムスケールで反応を行っており大量合成にも十分に対応することができた。また有機銅試薬の調製として臭化銅-ジメチルスルフィド錯体よりも安定で、扱いも容易なヨウ化銅を用いて 1,2-付加反応を行ったが同様の選択性、収率で反応が進行した(entry 1)。



**Table 1**

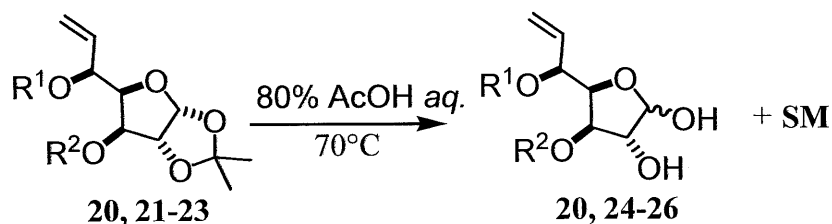
entry	temp.	time(h)	a eq.	CuX	b eq.	yield(%)		
						<i>syn</i> -18	<i>anti</i> -18	SM 14
1	-40°C → rt.	3	3.0	CuI	3.4	75	-	15
2	-40°C → rt.	3	3.0	CuBr-Me <sub>2</sub> S	3.4	72	-	17
3	-40°C → rt.	over night	3.0	CuBr-Me <sub>2</sub> S	3.4	51	-	19 wt (+unk)
4	-40°C → rt.	1.5	5.0	CuBr-Me <sub>2</sub> S	5.5	37	-	37
5	-40°C	96	2.0	CuBr-Me <sub>2</sub> S	2.3	14	-	70
6	-20°C	17	2.0	CuBr-Me <sub>2</sub> S	2.3	26	-	60
7	0°C	26	2.0	CuBr-Me <sub>2</sub> S	2.3	9	-	62
8	-40°C → 40°C	3	3.0	CuBr-Me <sub>2</sub> S	3.4	23	-	20

アセタールの脱保護



**Scheme 4**

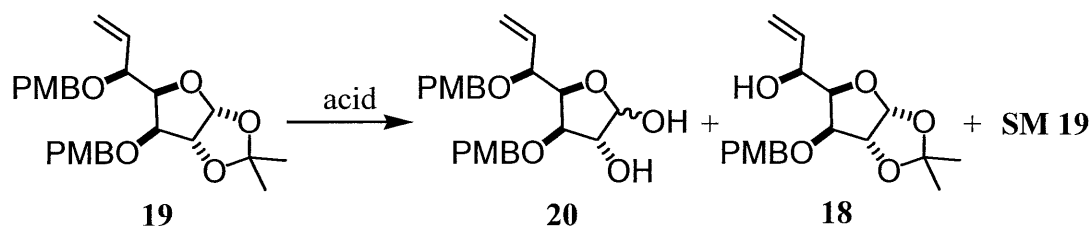
*syn-18* の水酸基を PMB で保護し、PMB 基を脱保護すること無くアセタールの脱保護を行う一般的な条件である 80%酢酸による脱保護<sup>17</sup>を行ったがアリル位水酸基の PMB 基が脱保護され、選択的に脱アセタール体(**20**)が得られなかった(**Scheme 4**)。ここでアリル位水酸基の保護基を PMB よりも酸に強い Bn や 2-メトキシベンジル(OMB)で保護を行ったが、80%酢酸を用いた場合選択的なアセタールの脱保護を達成できなかった(entry 2, 3)(**Table 2**)。しかし **19** の二つの PMB が Bn になった **23** は 80%酢酸を用いた脱保護の場合、選択的に脱アセタール体(**26**)が得られた(entry 4)。I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> の合成は Bn 基を保護基として用



**Table 2**

entry	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	time(h)	yield(%)		
				TM	SM	
1	<b>19</b>	PMB	PMB	3.5	<b>20: &lt;5</b>	10
2	<b>21</b>	Bn	PMB	17	<b>24: 37</b>	-
3	<b>22</b>	OMB	PMB	17	<b>25: 27</b>	-
4	<b>23</b>	Bn	Bn	18	<b>26: 92</b>	-

いれば良いが、今回は種々のイノシトール誘導体に適応可能な合成法の確立を目的としているため、この PMB 基を導入した **19** での選択的な脱保護が実現できなければ *myo*-イノシトールの所望の水酸基へ、目的の置換基を導入する方法論の確立は難しい。そこで種々の酸触媒、溶媒を用いた PMB の選択的な脱保護の検討を行ったところ、10*N*リン酸、30*N*リン酸を用い溶媒を THF とした場合に低収率だが、これまでに比べ良い選択性で脱保護された(entry 1, 2)。次に溶媒を THF とし、強酸である硫酸を用い検討を行ったところ、原料が回収されるものの選択的にアセタールが脱保護され、求核性の低い酸を用いたことで選択的に脱保護されたと示唆される(entry 3, **Table 3**)。

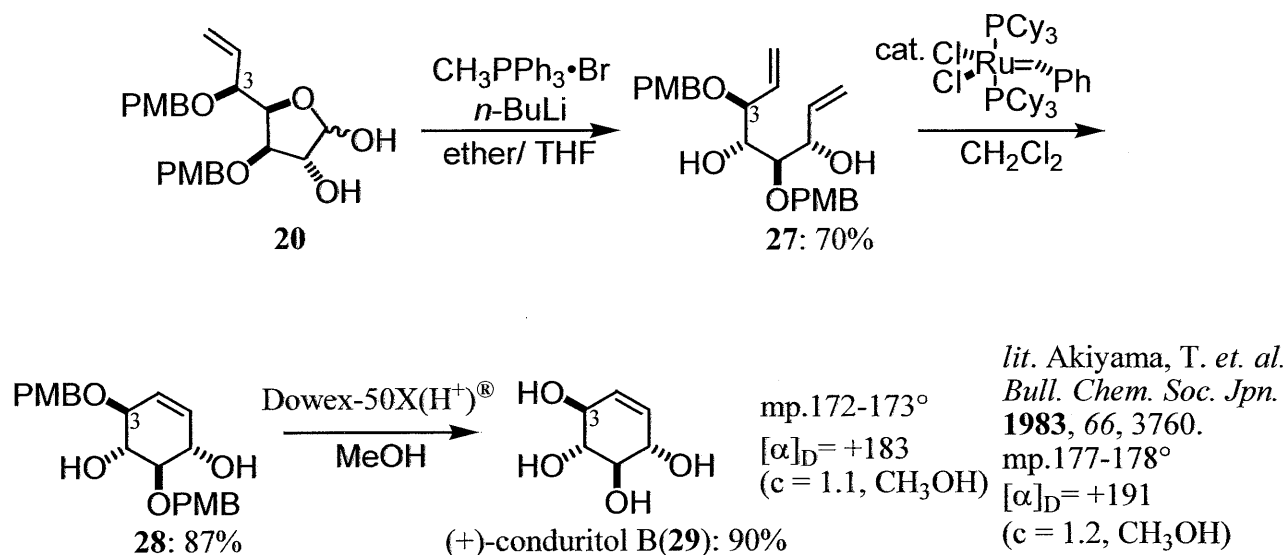


**Table 3**

entry	acid	temp.	time(h)	yield(%)		
				20(conv.)	18	SM 19
1	30 <i>N</i> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	rt.	16	36(38)	9	48
2	10 <i>N</i> H <sub>3</sub> PO <sub>4</sub>	40°C	27	26(69)	5	32
3	3 <i>N</i> H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	40°C	40	50(85)	9	41

天然物(+)-コンヅリトール B への誘導による立体化学決定

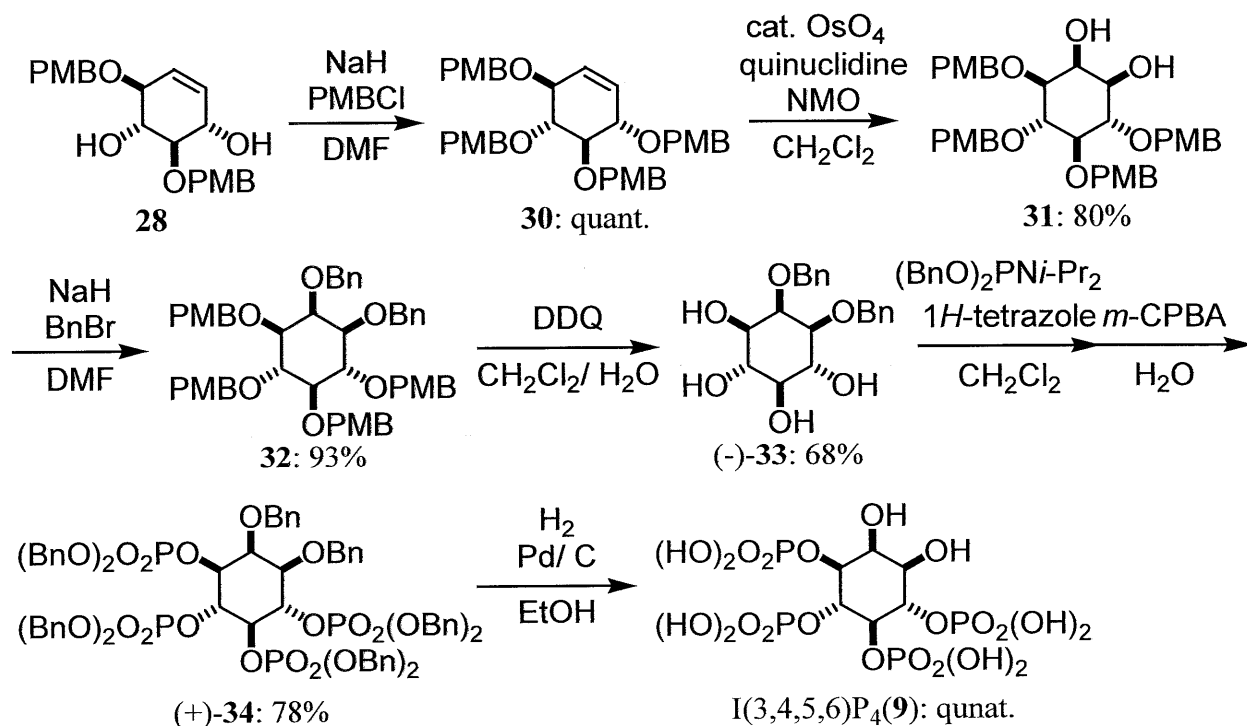
得られた脱アセタール体(**20**)の Wittig 反応により 1,7-ジエン(**27**)を得、次に **27** を第一世代の Grubbs 錯体を用いて閉環メタセシス<sup>18</sup>を行い重要中間体である(+)-コンヅリトール B 誘導体(**28**)を合成した。アルデヒドへの有機銅試薬を用いた 1,2-付加で構築したアリル位の 3 位水酸基の立体配置を確認するため、2つの PMB を脱保護して天然物である(+)-コンヅリトール B(**29**)<sup>19</sup>へと誘導した(**Scheme 5**)。



Scheme 5

C<sub>2</sub> 対称(+)-コンヅリトール B 誘導体からの I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> の合成

合成した(+)-コンヅリトール B 誘導体(28)の二つの水酸基を PMB で保護して C<sub>2</sub> 対称とし、四酸化オスミウム酸化により単一の *myo*-イノシトール誘導体(31)を得た。次に 31 の二つの水酸基を Bn で保護の後、全ての PMB を DDQ で脱保護、テトラオール((-)-33)をアミダイト法にてリン酸基の導入<sup>29</sup>、最後にパラジウム炭素を用いた加水素分解により全ての保護基である Bn を脱保護し、I(3,4,5,6)P<sub>4</sub>(9)を合成した(Scheme 6)。



Scheme 6

ジアステレオ選択的四酸化オスミウム酸化法の開発  
種々のリン酸化イノシトールを指向した合成戦略

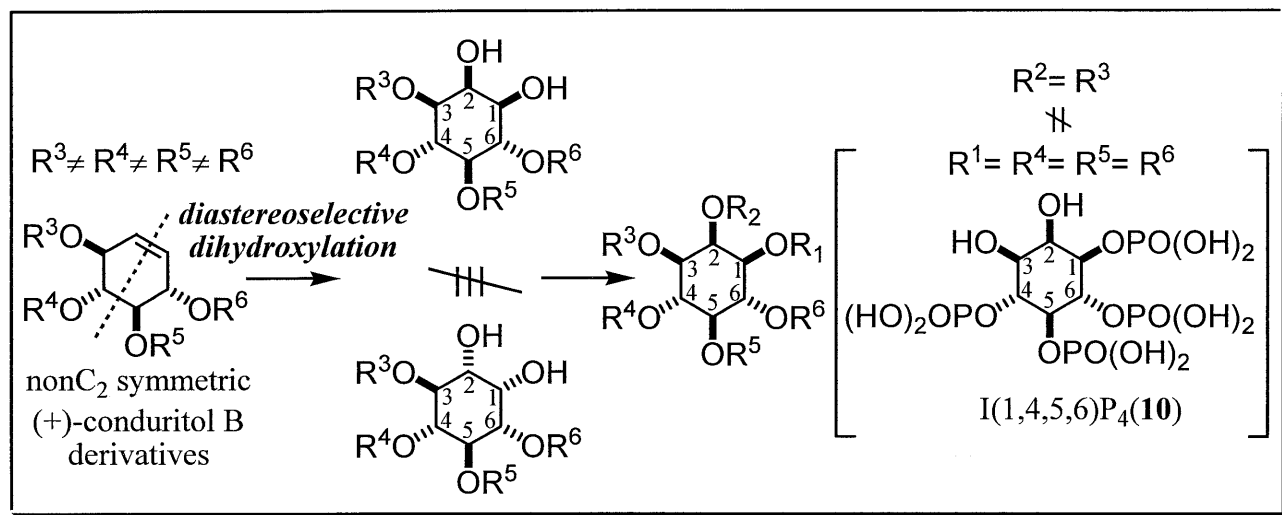
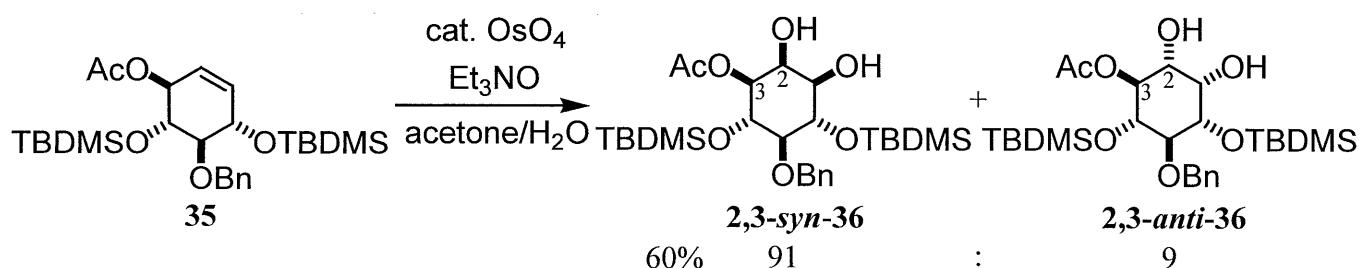
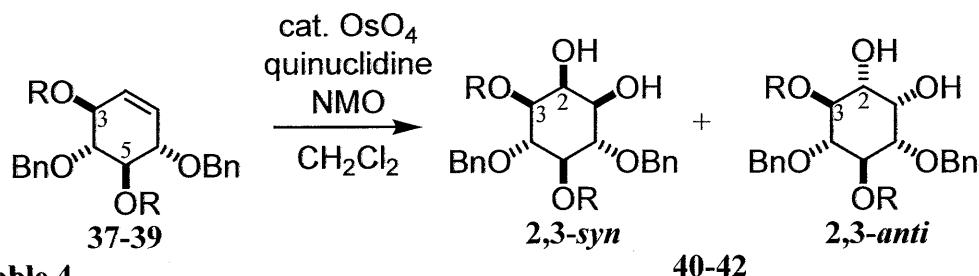


Fig. 10

I(3,4,5,6)P<sub>4</sub>(9)の合成では C<sub>2</sub> 対称な(+)-コンヅリトール B 誘導体の四酸化オスミウム酸化であったので、酸化反応のジアステレオ選択性は考慮しなかった (Scheme 1)。しかしながら I(1,4,5,6)P<sub>4</sub>(10)を合成するために、非 C<sub>2</sub> 対称な(+)-コンヅリトール B 誘導体のジアステレオ選択的な四酸化オスミウム酸化を行い、*myo*-イノシトール骨格を完全に制御して構築しなければならない (Fig. 10)。また他のイノシトール誘導体の合成に向けて、所望の水酸基に目的の置換基を導入するためにも四酸化オスミウム酸化をジアステレオ選択的に行う方法論の確立を行う必要がある。しかし環上に複数の置換基を有する場合、それぞれの置換基が複雑に関与するため四酸化オスミウム酸化のジアステレオ選択性を制御することは一般的に難しい。しかしながら近年 Blades らは(+)-コンヅリトール B 誘導体を用いた四酸化オスミウム酸化において、高いジアステレオ選択性で *myo*-イノシトール骨格の構築に成功している<sup>21</sup>。この選択性の発現機構はアリル位水酸基に導入した置換基効果によるもので、嵩高い置換基である TBDMS を避ける形で酸化が進行したと考えられている (Scheme 7)。



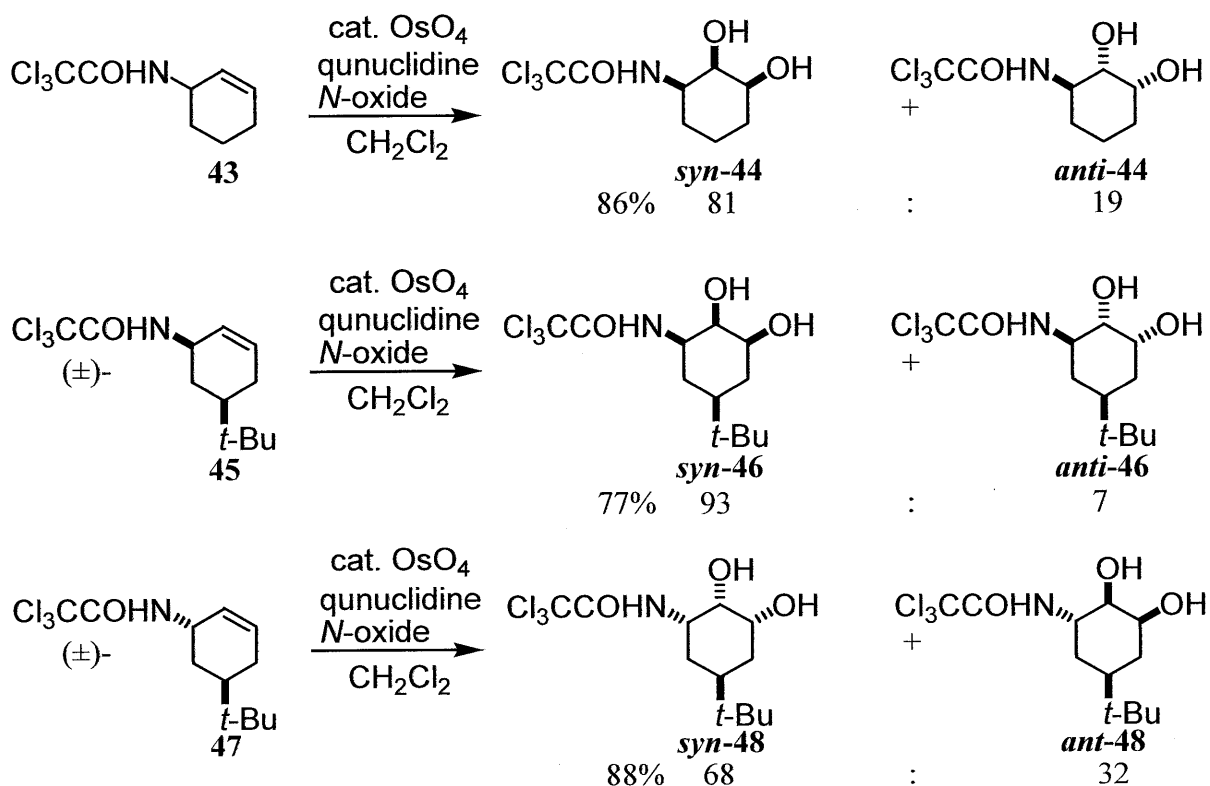
Scheme 7



**Table 4**

entry		R	yield (%)	2,3- <i>syn</i> : 2,3- <i>anti</i>
1	37	PMB	40:98	50 : 50
2	38	OMB	41:91	50 : 50
3	39	TBDMS	42:62	50 : 50

アリル位水酸基に嵩高い置換基を導入し、ジアステレオ選択的な四酸化オスミウム酸化の検討を行った。アリル位に PMB や OMB といった Bn とほぼ同じ大きさの置換基の場合選択性は見られなかったが(entry 1,2)、嵩高い置換基である TBDMS を導入した場合には選択性が発現されると期待したが、収率が低下するだけで選択性は全く発現しなかった(entry 3, **Table 4**)。これまでのジアステレオ選択的な四酸化オスミウム酸化において、アリル位にトリクロロアセトアミド基を導入した場合に高い選択性で *syn* 方向に水酸基が導入される事を



**Scheme 8**

Donohoe らが報告している(Scheme 8)<sup>22</sup>。この反応の選択性は N-H 基によって発現されていると Donohoe らは考えているが、Blades らの例と合わせて考えればアセチル基及びアミド基のカルボニル基の効果が示唆される。本合成においてもカルボニル基を有する保護基をアリル位水酸基に導入すれば、四酸化オスミウム酸化の立体選択性を発現できると考えた(Table 5)<sup>39</sup>。(+) -コンヅリトール B 誘導体の 3 位、5 位にアセチル基、ベンゾイル基を導入した場合、アシル基と同じ面からの酸化が進行し、2,3-*syn* 体を優先的に得られた、また電子的に異なる 4-ニトロベンゾイル基、4-メトキシベンゾイル基においても同様の選択性で反応が進行した。更に嵩高いアシル基であるピバロイル基においても高い選択性で同じ面からの酸化が進行し、このことから立体障害以外の因子において四酸化オスミウム酸化のジアステレオ選択性が発現していると考えられる。

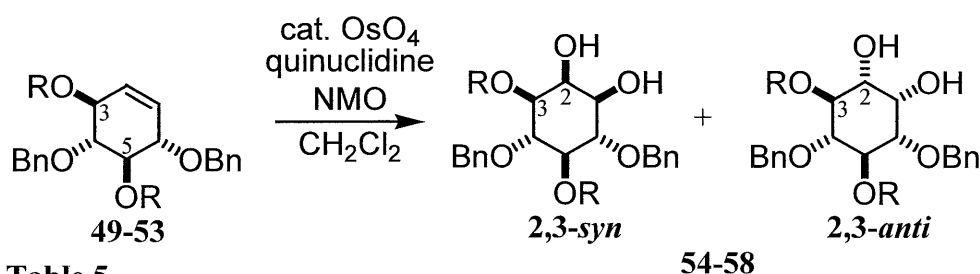


Table 5

entry	R	yield (%)	2,3- <i>syn</i> : 2,3- <i>anti</i>
1	49 benzoyl(Bz)	54: 85	92 : 8
2	50 4-nitrobenzoyl	55: 88	89 : 11
3	51 4-methoxybenzoyl	56: 66	90 : 10
4	52 pivaloyl	57: 70	85 : 15
5	53 acetyl	58: 75	88 : 12

このような触媒的四酸化オスミウム酸化において、エステルのカルボニル基の効果によるジアステレオ選択性の発現の詳細な検討は行われていない。しかもアリル位水酸基にベンゾイル基などのアシル基を導入するだけで、四酸化オスミウム酸化のジアステレオ選択性を発現できることは、合成手法的にも優れた方法論に展開できる。そこで本反応の四酸化オスミウム酸化のジアステレオ選択性の向上や発現機構、アシル基の効果の基質応用範囲について詳細に検討を行った。





る形での酸化が選択的に進行し(entry 2)、ベンゾイル基を導入した場合は配座を固定したことで、ベンゾイル基と同じ面からの酸化が2割ではあるが進行した(entry 3)。アシル基と同じ面からの酸化体を優先的に得ることは出来なかったが、これらの結果から配座による四酸化オスミウム酸化のジアステレオ選択性への効果を確認した(Table 7)。

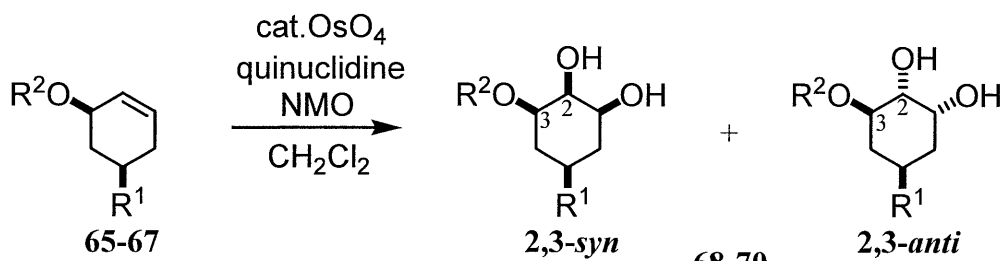
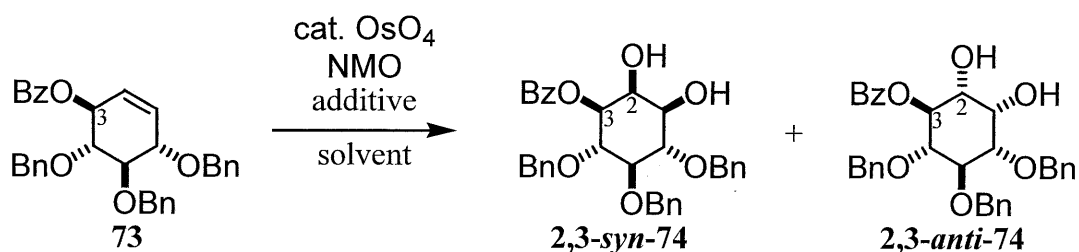


Table 7

entry	R <sup>1</sup>	R <sup>2</sup>	yield(%)	2,3-syn	:	2,3-anti
1	65	<i>t</i> -Bu	H	68: 81	52	: 48
2	66	<i>t</i> -Bu	Bn	69: 75	<2	: 98
3	67	<i>t</i> -Bu	Bz	70: 82	20	: 80

これまでの結果からベンゾイル基も立体障害の効果が働くために単純なシクロヘキセノール誘導体でのジアステレオ選択的四酸化オスミウム酸化を行うことは難しい。そこでシクロヘキセン環の2つのアリル位水酸基にそれぞれ Bz 基と Bn 基を導入した化合物(71)の、四酸化オスミウム酸化を行えばジアステレオ選択性が発現できると考えた。そこで合成した 71 の酸化反応を行ったところ、ベンゾイル基と同じ面からの酸化が優先的に進行した(entry 3)。一般的に四酸化オスミウム酸化の反応加速剤として用いられるアミンとして、TMEDA、DMAP、キヌクリジンのジアステレオ選択性への効果を確認したところ、反応速度、ジアステレオ選択性においてもキヌクリジンが良い結果を与えた(entry 1-3)。次にカルボニルの面選択性への効果を確認するために極性溶媒や、カルボニルを有する溶媒を用いることでアリル位ベンゾイル基の効果が弱まり、選択性に低下が見られると考え反応を行った(entry 3-7)。しかしながら反応速度に差はあるものの、選択性においてはどの溶媒においても差が見られなかった(entry 3-7, Table 8)。



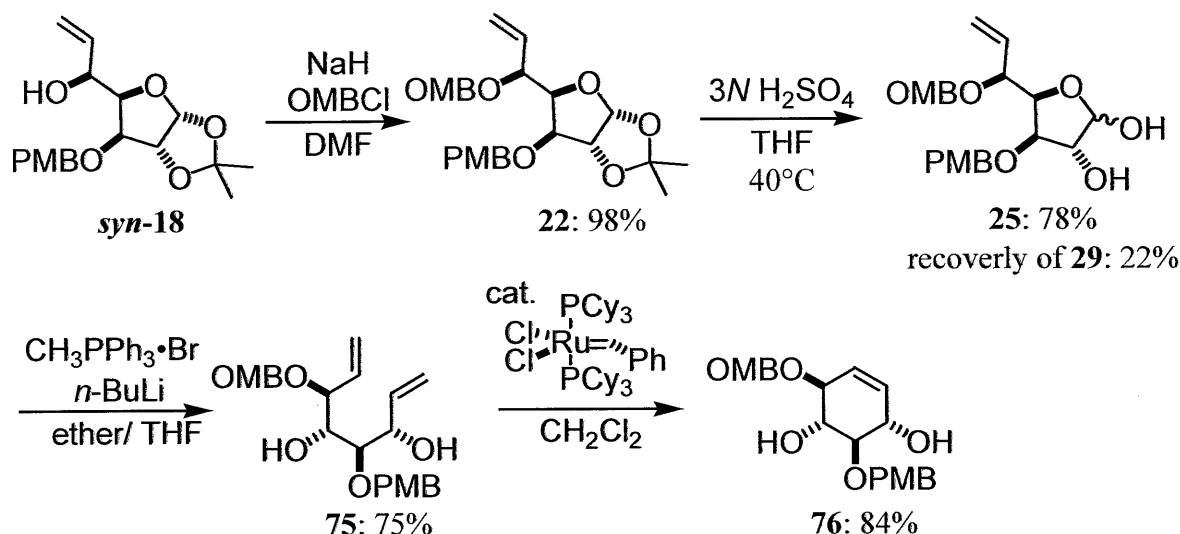


**Table 9**

entry	solvent	additive	days	yield (%)	2,3- <i>syn</i> : 2,3- <i>anti</i>
1	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	quinuclidine	1	78	91 : 9
2	<i>t</i> -BuOH	quinuclidine	1	99	92 : 8
3	AcOEt	quinuclidine	1	83	93 : 7
4	DMF	quinuclidine	0.5	93	84 : 16
5	acetone	quinuclidine	1	99	91 : 9
6	CH <sub>2</sub> Cl <sub>2</sub>	————	3	76	76 : 24
7	<i>t</i> -BuOH	————	6	38	83 : 17
8	AcOEt	————	3	83	88 : 12
9	DMF	————	1	93	81 : 19

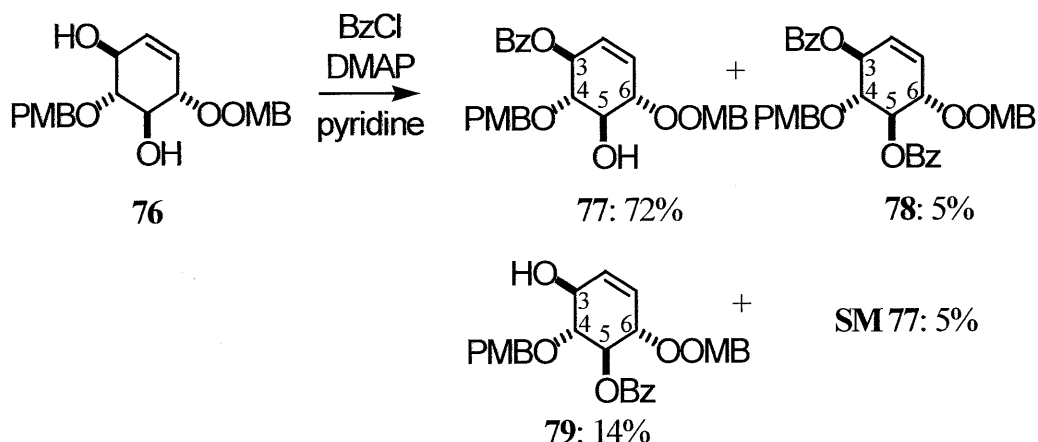
非 C<sub>2</sub> 対称コンヅリトール B 誘導体のジアステレオ選択的四酸化オスミウム酸化

(+)-コンヅリトール B 誘導体のアリル位水酸基にのみベンゾイル基を導入することで、ジアステレオ選択的に四酸化オスミウム酸化を行う方法をリン酸化イノシトール合成法に適応させた。本研究では *myo*-イノシトールの水酸基をすべて区別し、所望の水酸基に目的の置換基を導入できる合成法を目標としている、そのため合成中間体のコンヅリトール B 誘導体においてもすべての水酸基の区別が必要となる。そこでアリル位水酸基にのみベンゾイル基を有し、残りの水酸基にはすべて異なる保護基を導入した(+)-コンヅリトール B 誘導体のジアステレオ選択的四酸化オスミウム酸化を検討した。先ずこの条件を満たした(+)-コンヅリトール B 誘導体の合成を行った。これまでに得ている *syn-18* のア



Scheme 9

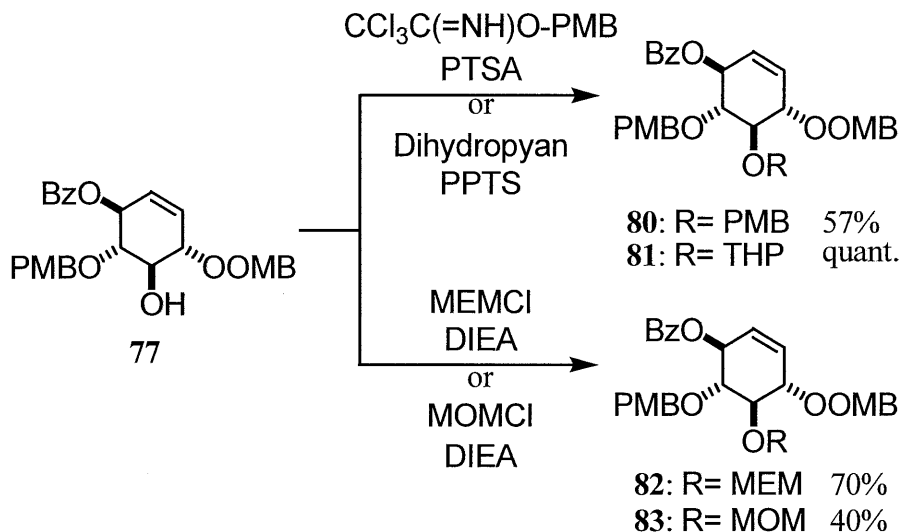
リル位水酸基に、PMB よりも酸で脱保護され難い OMB を保護基として用いることで、二つの水酸基の区別し、しかも高い収率でアセタールを選択的に脱保護した。その後はアノマー位での Wittig 反応、1,7-ジエン(75)の閉環メタセシス反応を経て(+)-コンヅリトール B 誘導体(76)を得た(Scheme 22)。



Scheme 10

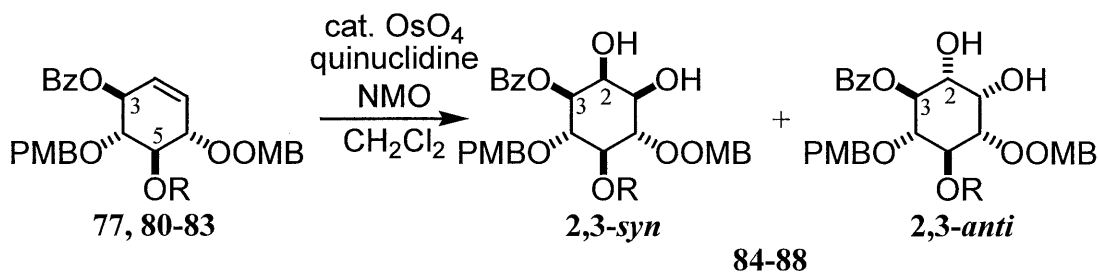
得られた(+)-コンヅリトール B 誘導体(76)の二つの水酸基は一方がアリル位水酸基であることや、他方が立体的に込み入っており反応性に差が生じると考えた。そこでピリジン中 DMAP を用い 1.05 等量の塩化ベンゾイルと反応させたところ、アリル位水酸基のみがベンゾイル化された 77 を選択的に得た(Scheme 10)。また 5 位の水酸基がベンゾイル化された 79 や、ジベンゾイル化された 78 は、炭酸カリウムを用いてメタノール中で加熱し、定量的に 76 へ変換した。

次にベンゾイル基を有する 77 の 5 位水酸基への保護基の導入は、強塩基性条件ではベンゾイル基の脱保護や転移などが起こるため、弱塩基及び酸性条件下で行う必要がある。そこで PMB アルコールから調製したイミデートと酸触媒



**Scheme 11**

として PTSA を用いて、5 位水酸基に PMB を中程度の収率で導入した<sup>23</sup>。またこの他にも保護基として、酸性条件で導入できる THP や、弱塩基条件で導入できる MEM、MOM の導入も行った (**Scheme 11**)。このようにして得た (+)-コンヅリトール B 誘導体 (**80-83**) の四酸化オスミウム酸化を行ったところ、5 位水酸基の保護基の種類に関わらず、予想通りに 3 位ベンゾイル基と同じ面からの酸化体を優先的に得た (**Table 10**)。これら (+)-コンヅリトール B の 3,4,5,6 位の水酸基にすべて異なった保護基を導入した **80-83** においても、3 位に水酸基にベンゾイル基を導入することでジアステレオ選択的に四酸化オスミウム酸化を行ったことにより *myo*-イノシトールのすべての水酸基の区別を可能とした合成法を確立した。



**Table 10**

entry	R	yield (%)	2,3-syn	:	2,3-anti
1	77	OH	84: 93	:	85 : 15
2	80	PMB	85: 86	:	93 : 7
3	81	THP	86: 84	:	84 : 16
4	82	MEM	87: 91	:	97 : 3
5	83	MOM	88: 78	:	92 : 8

# I(1,4,5,6)P<sub>4</sub> の合成

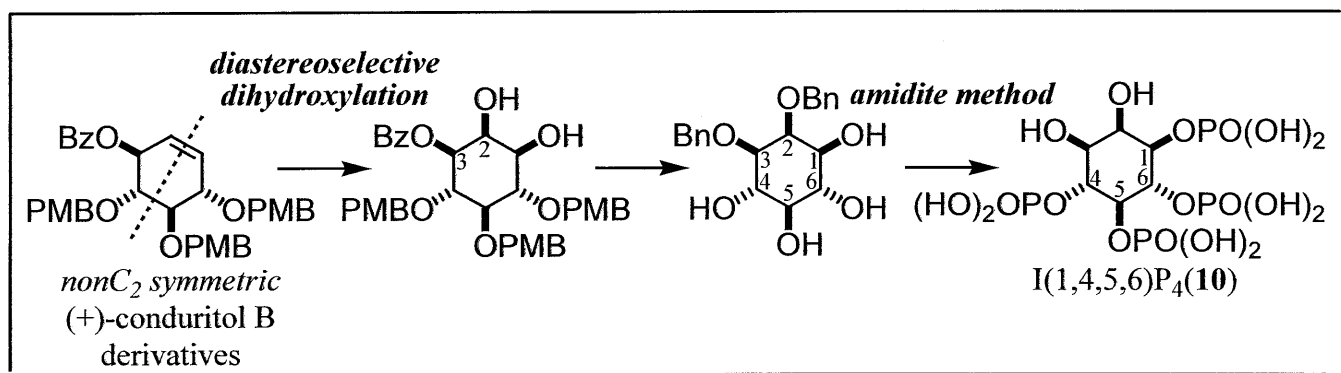
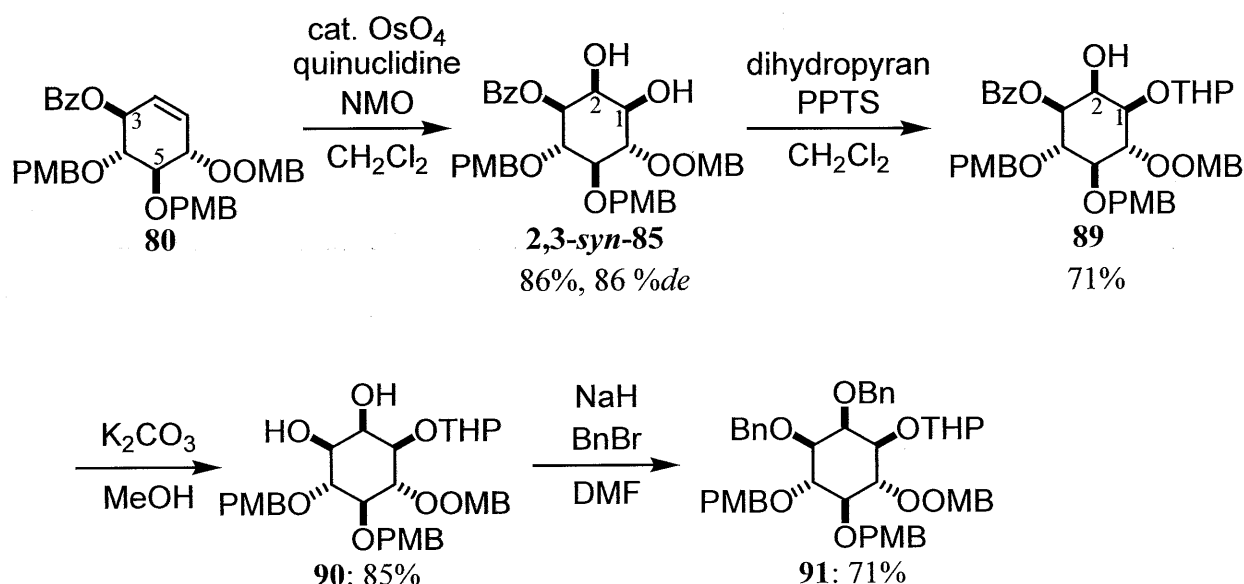


Fig. 11

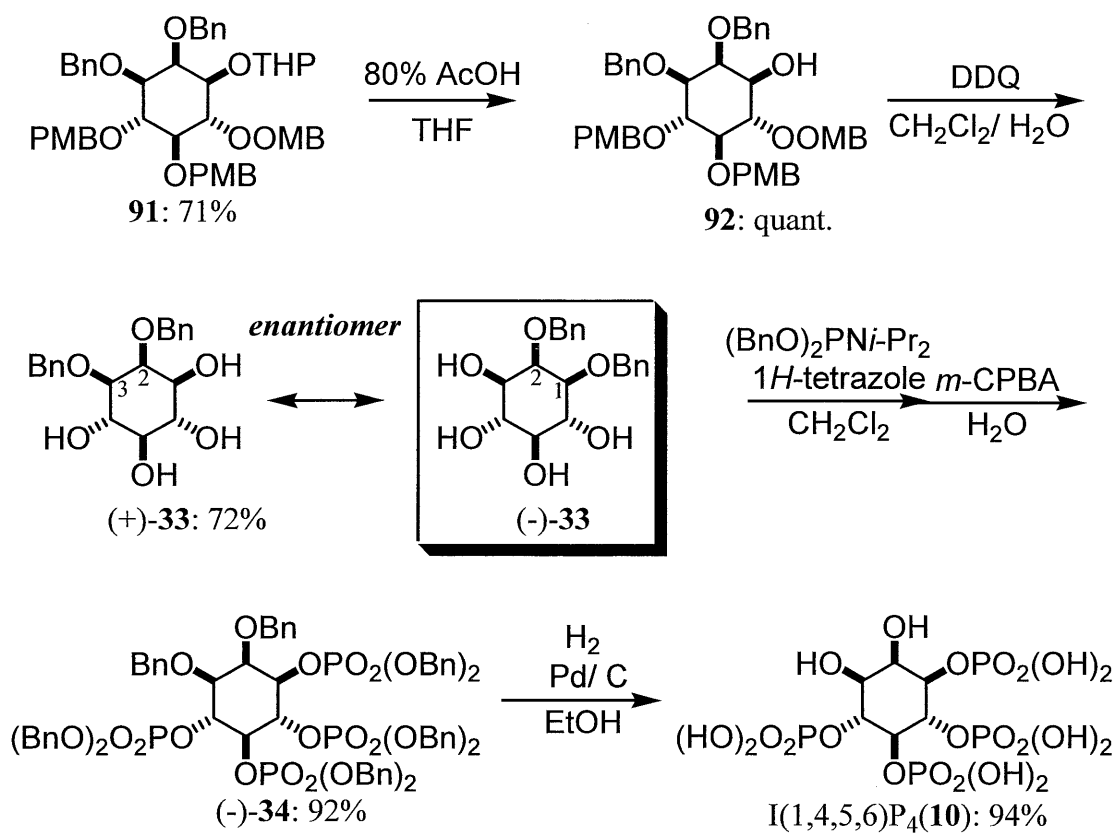
次にアリアル位水酸基にベンゾイル基を導入した(+)-コンヅリトール B 誘導体の、ジアステレオ選択的な四酸化オスミウム酸化法を用い、I(1,4,5,6)P<sub>4</sub>(10)の合成を行う (Fig. 11)。

所望の保護基が導入された(+)-コンヅリトール B 誘導体は Scheme 9-10 の方法により合成し、アリアル位水酸基にベンゾイル基を、他の水酸基は PMB と OMB を導入した化合物(80)を得た。この 80 の四酸化オスミウム酸化は高収率、高ジアステレオ選択的に進行し、得られたジアステレオマーの混合物はシリカゲルカラムにより分離精製し、*myo*-イノシトール誘導体(2,3-*syn*-85)を得た。次に目的の立体を有する 2,3-*syn*-85 の、1,2 位水酸基の識別は 2 位水酸基の反応性の低さを利用して 1 位水酸基にのみ選択的に THP 基を導入し、3 位ベンゾイル基を脱保護、ジオールのベンジル化を行った (Scheme 12)。その後 80%酢酸を用いた THP 基の脱保護、OMB と PMB の DDQ を用いた脱保護によりテトラオール体



Scheme 12

((+)-**33**)を得た。この(+)-**33** は NMR や各種スペクトルデータ、比旋光度の比較により I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> の合成中間体((-)-**33**)の鏡像体であることを確認した。テトラオール((+)-**33**)からは I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> の合成と同様の方法を用い、I(1,4,5,6)P<sub>4</sub>(**10**)を得た(Scheme 13)。



Scheme 13



## IPC のフラグメントとなる *myo*-イノシトールの合成 重要な生物機能を有する IPC

そこで今回開発した合成法を用いて、効率的に IPC のイノシトールフラグメントを合成する。イノシトールフォスホセラミド(IPC,CJP1)はブルーストリパノソーマ(ナガナ病を起こす熱帯アフリカの寄生性原虫)の研究からこれらの化合物の存在が明らかとなり、IPC は膜構成成分として真核細胞の膜タンパク質の固着、植物細胞のアポトーシスに関与していることが知られている<sup>24</sup>。Nagiec らにより、*S. cerevisiae* におけるスフィンゴ脂質の生合成に必須の酵素として IPC 合成酵素が発見され<sup>25</sup>、aureobasidin A がこの IPC 合成酵素活性を阻害 ( $IC_{50} = 0.2 \text{ nM}$ )していることが分かった。近年多くの研究により IPC 合成酵素は哺乳類とは全く異なった菌類固有の極めて重要で、しかも特異な生合成酵素で、成長に不可欠であることがわかりつつある(Fig. 12)<sup>26</sup>。IPC 合成酵素を阻害することでセラミドが蓄積され、アポトーシスが引き起こされているのではないかと考えられている。そこで細胞内寄生性のために治療が難しく、重篤で世界中の熱帯、亜熱帯、温帯地域に分布するヒストプラズマ症の抗真菌薬のデザインとして治療に役立つと期待され、最近になり IPC 合成酵素阻害剤が注目されている<sup>27</sup>。しかしながら IPC の生合成経路も未だ明らかとされておらず、近年、これまでの生合成経路を否定する論文などが報告され<sup>28</sup>、この生合成経路を明らかとすることが望まれている。このように生合成経路解明の為にプローブや、新たな抗真菌薬として IPC やその類縁体の合成が必要とされている。

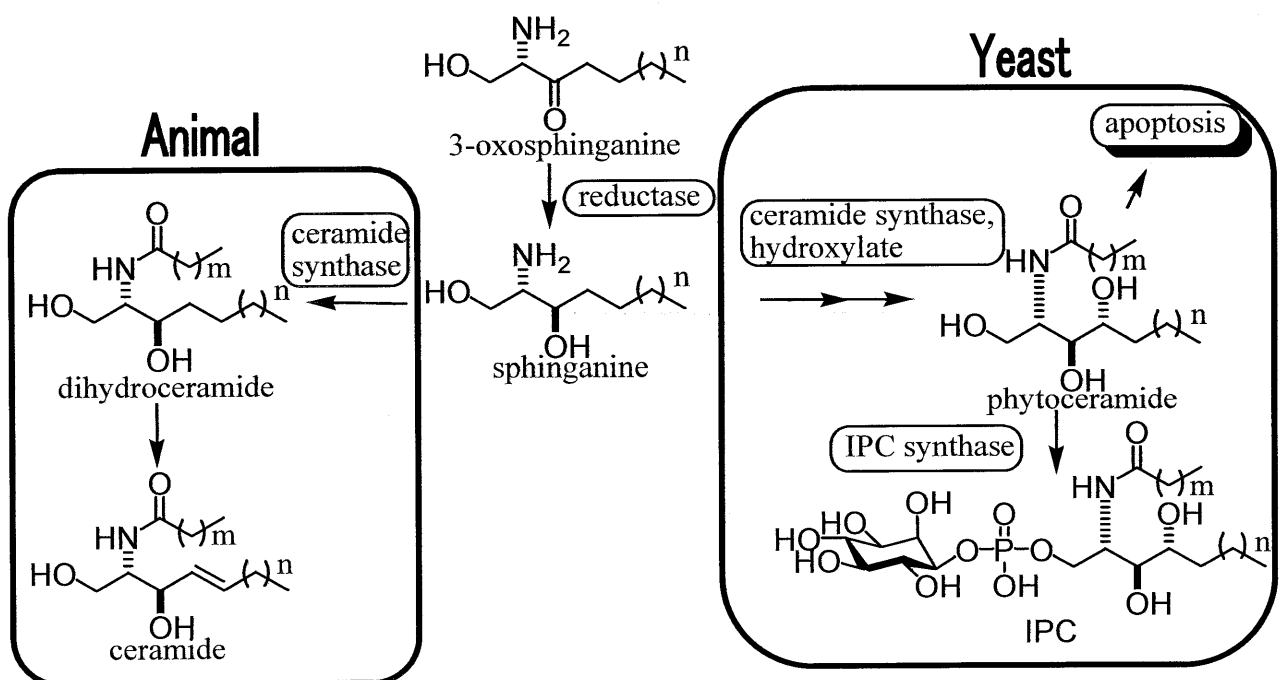


Fig. 12  
32

IPC のフラグメントとなる *myo*-イノシトール誘導体の合成

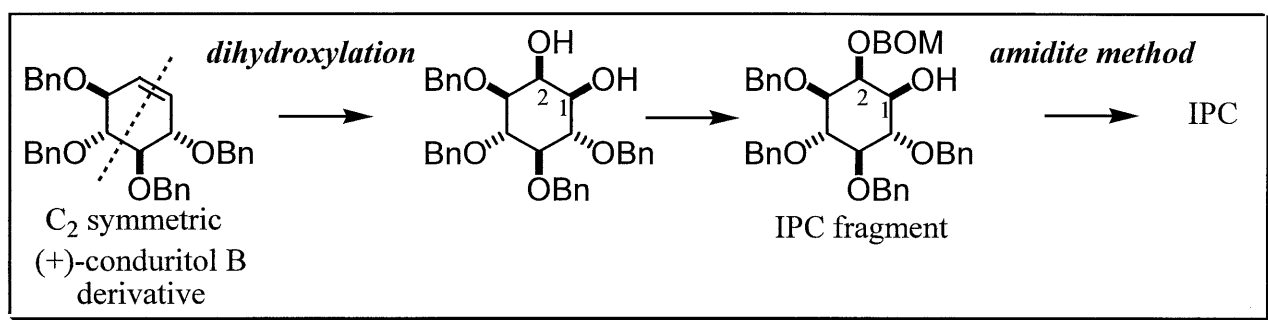
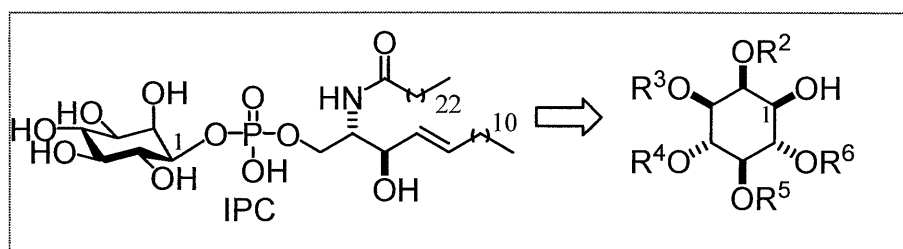
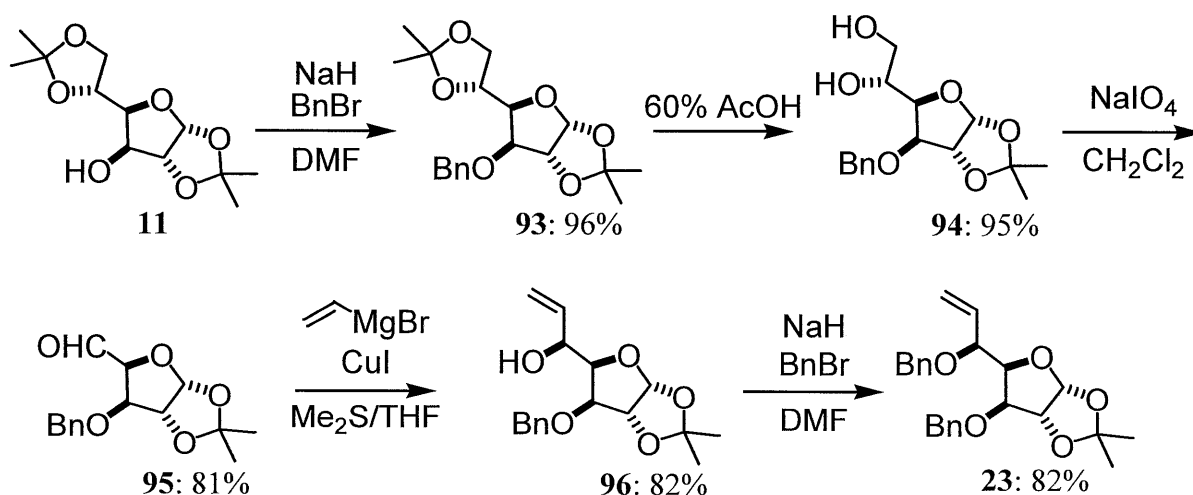


Fig. 13

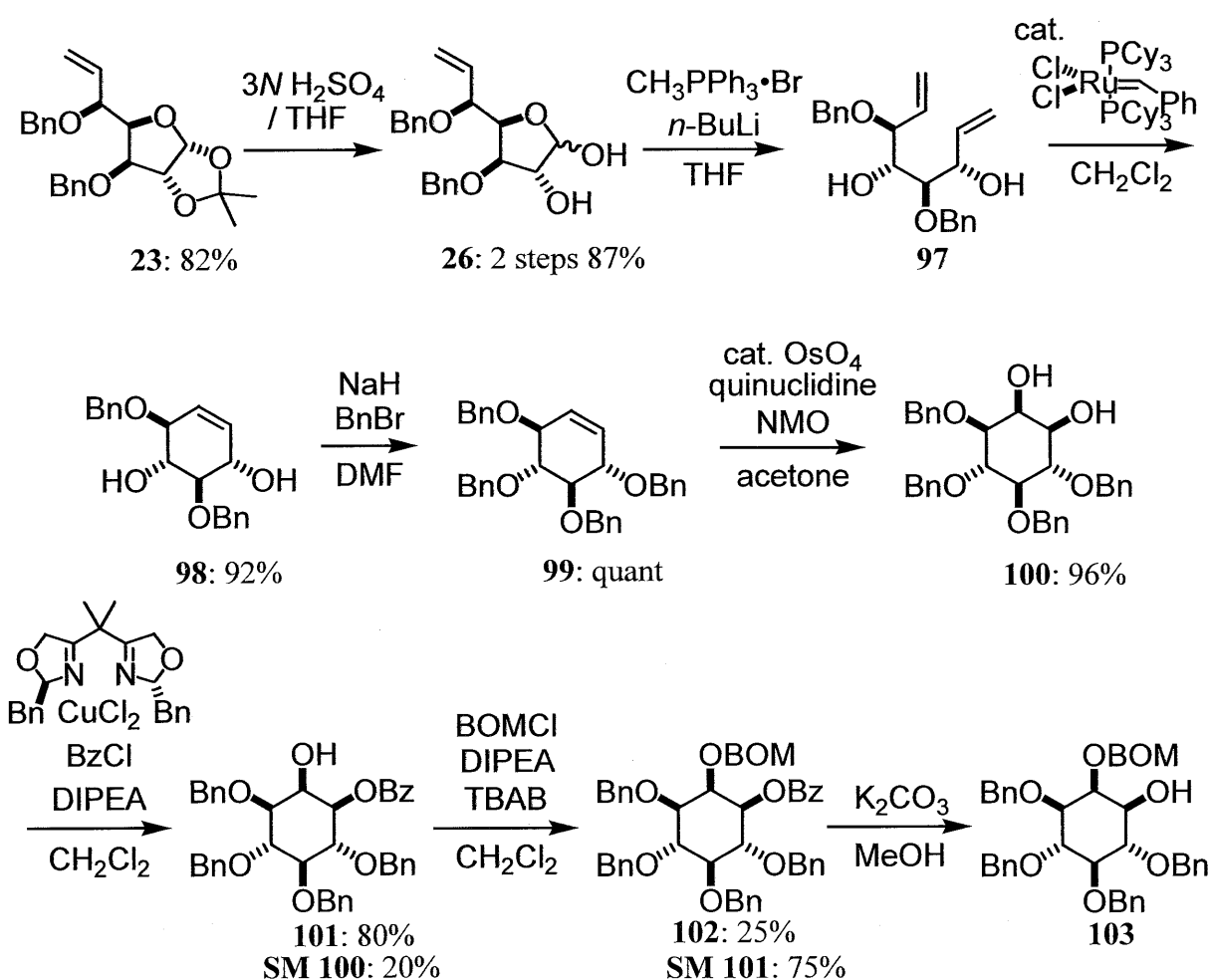
IPC のフラグメントとなる *myo*-イノシトール誘導体は、1 位水酸基にホスホセラミドを導入するのみである、そこで I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> の合成と同様に C<sub>2</sub> 対称な (+)-コンヅリトール B 誘導体から合成した。すべての水酸基にベンジル基を導入した、C<sub>2</sub> 対称な (+)-コンヅリトール B 誘導体の四酸化オスミウム酸化により単一のイノシトールを得、1,2 位水酸基の区別により IPC の *myo*-イノシトールフラグメントの合成を行う (Fig. 13)。

これまでと同様に、先ずジアセトングルコース(11)の水酸基を Bn 基で保護し、酢酸を用いてアセタールの脱保護、その後ジオールを過ヨウ素酸により酸化しアルデヒド(95)を得た。95 への有機銅試薬を用いたジアステレオ選択的 1,2-付加の後、得られたアリルアルコール(96)を Bn 基で保護をした (Scheme 14)。次に 3*N* 硫酸を用いたアセタールの脱保護は収率良く進行し、出発原料から高収



Scheme 14

率で 1,7-ジエン(**97**)へ誘導した。その後第 1 世代 Grubbs 触媒を用いた閉環メタセシスによりコンヅリトール B 誘導体(**98**)を合成し、2つの水酸基を Bn 基で保護して C<sub>2</sub> 対称なコンヅリトール B 誘導体(**99**)とし、四酸化オスミウム酸化を行い、単一の *myo*-イノシトール誘導体(**100**)を高収率で得た。次に Bn-box、塩化銅錯体を用いて 1 位の水酸基にのみ Bz 基を導入し、その後 2 位の水酸基を BOM 基で保護した。しかしながら BOM 基の導入において低収率であったため塩基の等量、添加物等検討したが 1 位の Bz 基が 2 位に転移してしまうため、低収率ではあるが反応を繰り返し行い次の段階へと進めた。最後の 1 位の Bz 基を脱保護し、目的の 1 位水酸基のみ保護されていない IPC フラグメントとなる *myo*-イノシトール誘導体(**103**)を合成した(Scheme 15)。



Scheme 15

## CJP2 のフラグメントとなるイノシトールの合成

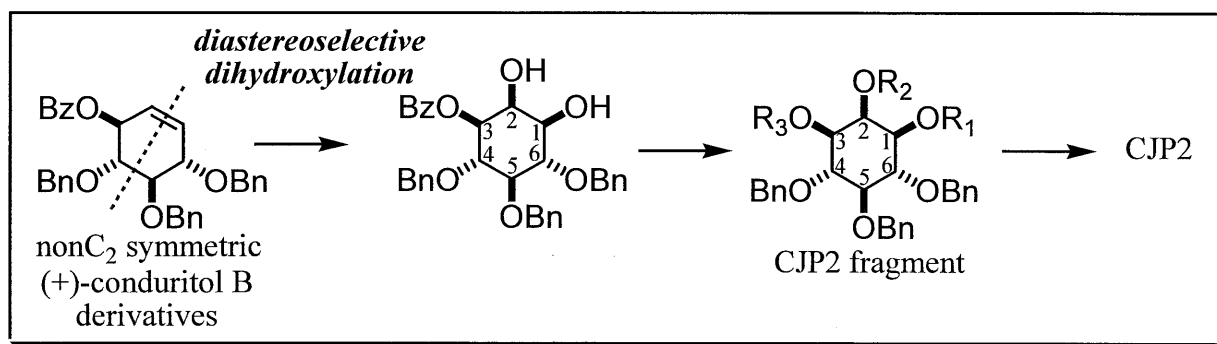
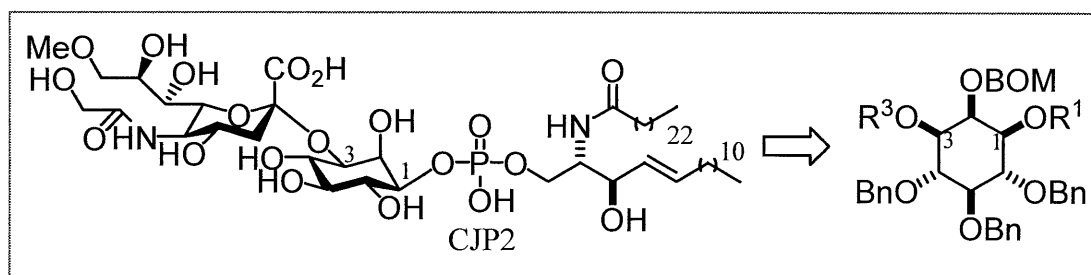
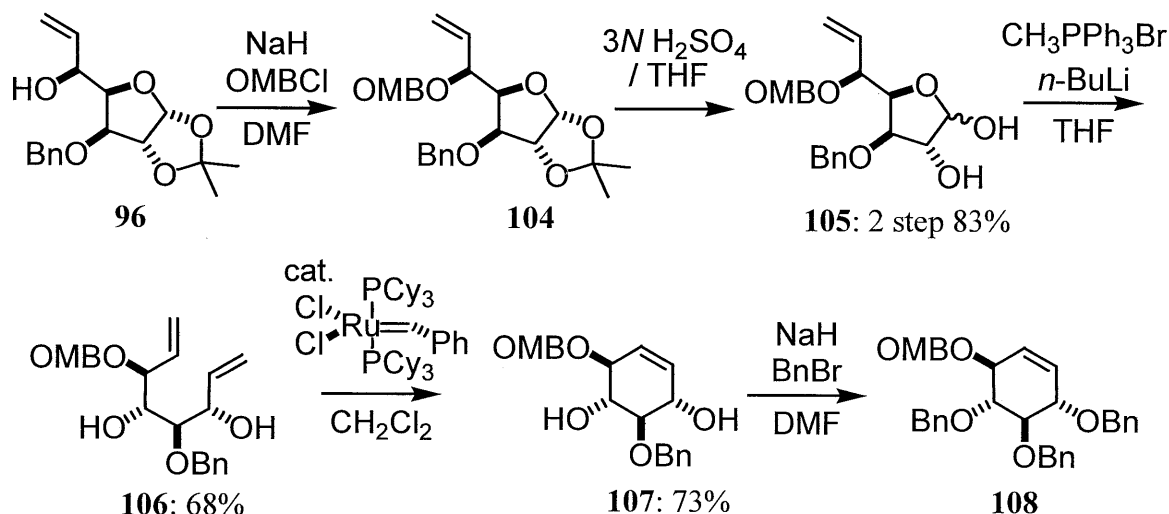


Fig. 14

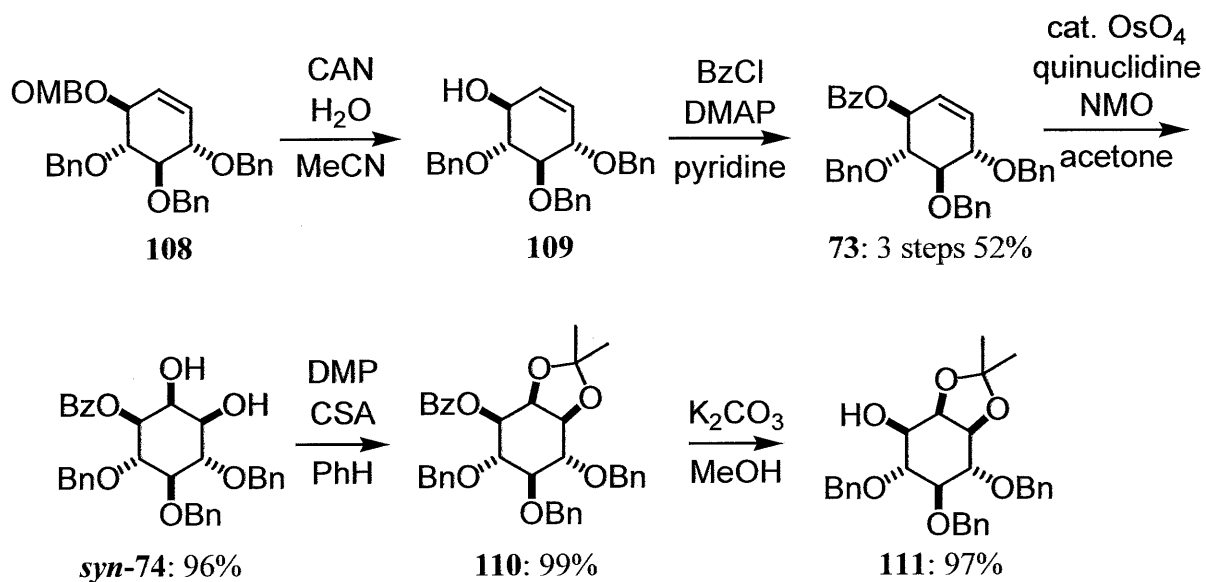
CJP2 のフラグメントとなる *myo*-イノシトールは 1 位にセラミドと 3 位にシアル酸を導入する必要がある。そこで 3 位アシル位水酸基にベンゾイル基を導入した(+)-コンヅリトール B 誘導体の、ジアステレオ選択的酸化オスミウム酸化を用いて 1 位と 3 位水酸基の区別を行い、CJP2 の *myo*-イノシトールフラグメントを合成する(Fig. 14)。

**Scheme 14** で得たアリルアルコール体(**96**)の水酸基をメトキシベンジル基で保護し、アセタールの脱保護、Wittig 反応を経て 1,7-ジエン(**106**)を構築した。その後第一世代 Grubbs 触媒を用いて閉環し、(+)-コンヅリトール誘導体(**150**)を得、**107** の二つの水酸基をベンジルで保護した(**Scheme 16**)。次に 3 位水酸基の OMB 基を CAN で脱保護し、続いてベンゾイル基を導入し、その酸化オス



Scheme 16

ミウム酸化は高ジアステレオ選択的に進行し、目的の *myo*-イノシトール誘導体 (*syn-74*)を得た。最後に 1,2-ジオールをアセタールで保護し、ベンゾイル基の脱保護を行い 1 位と 3 位の水酸基を区別し、CJP2 フラグメントとなる *myo*-イノシトール誘導体(**111**)を立体選択的に合成した(**Scheme 17**)。



**Scheme 17**

## セラミドフラグメントの合成

### セラミドの生物機能

グリセロリン脂質、コレステロール、スフィンゴ脂質の3種は人間の生体内に主に存在する脂質で、セラミドはスフィンゴシン塩基のアミノ基に脂肪酸が酸アミド結合したものである。スフィンゴシン塩基とアシル CoA から生合成されるセラミドは、スフィンゴ糖脂質やスフィンゴリン脂質の構成成分としてや、遊離型でも動植物や微生物界に広く分布している。1989年に Ozaki らが細胞分化による増殖抑制時に細胞内で増加し、外因性の細胞膜透過性の合成セラミドにより細胞分化が誘導されることを報告して以来<sup>29</sup>、そのシグナル伝達分子としての認識が深まった。一方、スフィンゴシン-1-リン酸 (S-1-P) は、セラミドがセラミダーゼによりスフィンゴシンに分解され、その後にスフィンゴシンキナーゼによりリン酸化されることにより生成される<sup>30</sup>。そのケモタキシス作用や血小板からの放出による血小板凝集作用が、初めて五十嵐らにより報告され<sup>31</sup>、さらに Spiegel らにより、繊維芽細胞の増殖やカルシウム増加に関係することも示された<sup>32</sup>。このようにセラミドは細胞内シグナルとしてよりむしろ細胞生存や増殖時の細胞間シグナルとしての機能が注目されている。

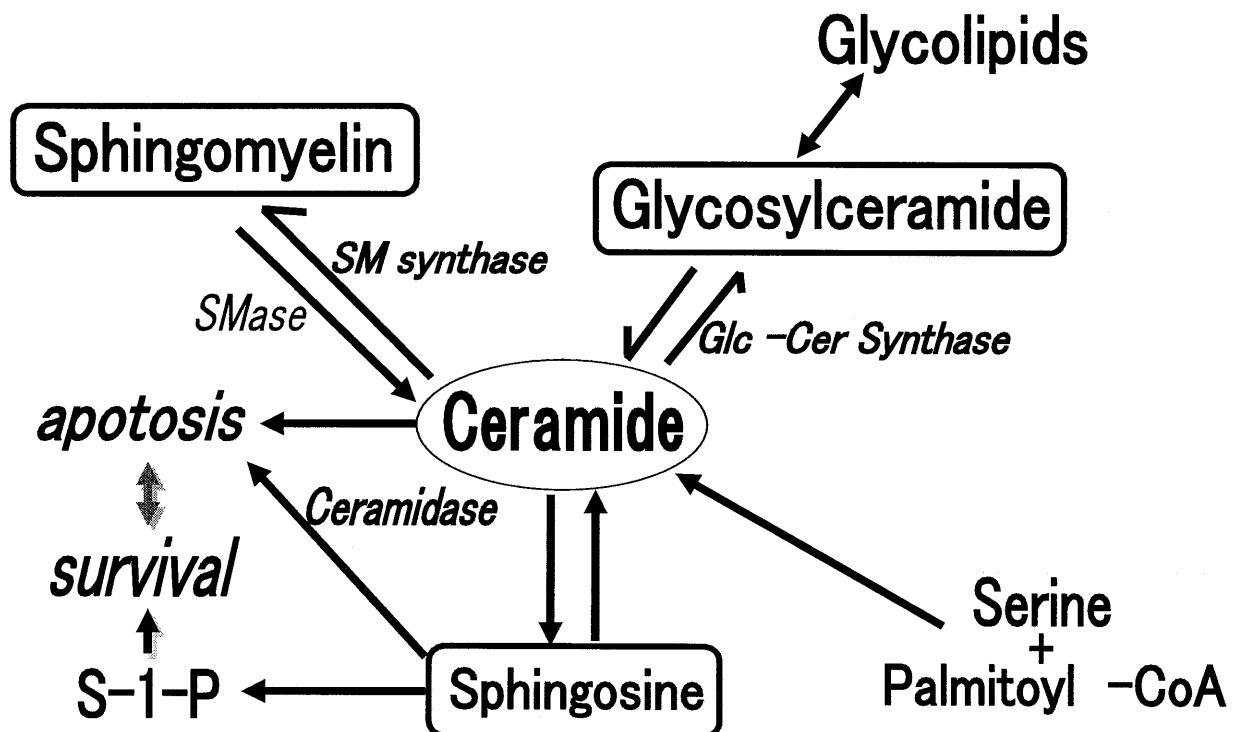


Fig. 15

またセラミドは様々なストレスにより、セラミド関連酵素—スフィンゴミエリナーゼ (SMase)、セラミダーゼ、グルコシルセラミド合成酵素 (GCS) やスフィンゴミエリン合成酵素 (SMS) の制御により細胞内で生成・分解され、そ

の細胞内量を調節する。一方 S-1-P は S-1-P リアーゼや脱リン酸化酵素により分解制御される。細胞内セラミドは、アポトーシス誘導シグナルであるカスパーゼファミリーや酸化物質(ROI)などを誘導し、S-1-P は細胞外から G タンパク結合性の EDG ファミリー受容体を介して PI-3 キナーゼ経路を活性化する事が知られている<sup>61</sup>。セラミドと S1P の細胞機能における相互作用は、1996 年にセラミドにより誘導されるアポトーシスが、S-1-P によるプロテインキナーゼ C 活性の増強を介して制御されることが報告された(Fig. 15)<sup>33</sup>。

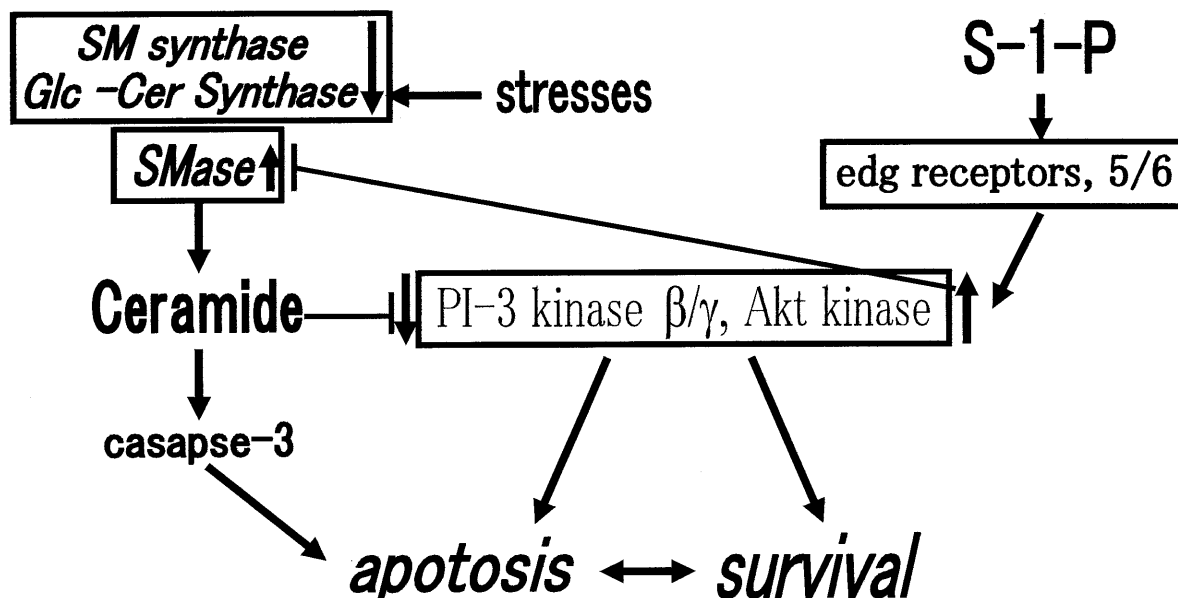
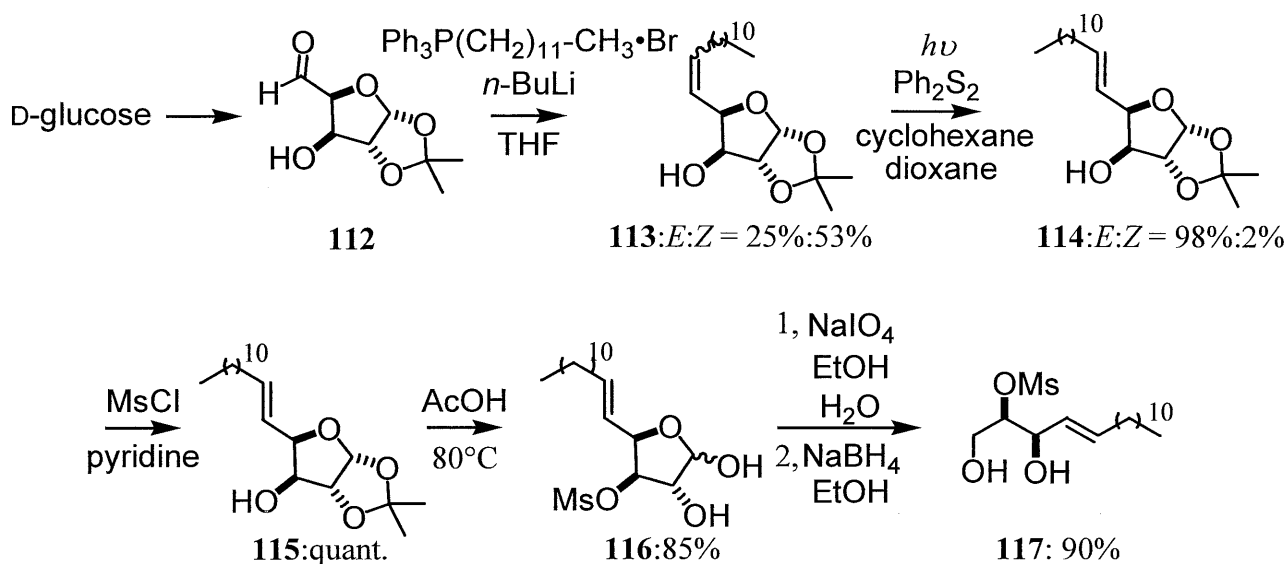


Fig. 16

さらにセラミドによるアポトーシス誘導作用が PI-3 キナーゼ活性/Akt キナーゼ活性の抑制を介していること、PI-3 キナーゼ活性の増強は SMase の活性を抑制することで、ストレスによる細胞内セラミド産生能の抑制を誘導することが報告された<sup>34,35</sup>。また、近年、S-1-P の細胞間作用は EDG ファミリーがその受容体として同定され、S-1-P の下流シグナルとして G タンパク結合型フォスホリパーゼ C の活性を介した、PI-3 キナーゼ活性が重要であることが示され、セラミドと S-1-P の相互シグナルの制御を PI-3 キナーゼが担っている可能性が示唆されている<sup>35</sup>。しかも、予備的実験では、セラミドが直接細胞内で PI-3 キナーゼに結合し、その下流の細胞増殖シグナルを制御する可能性も示唆されている<sup>36</sup>。以上の様に、スフィンゴ脂質、セラミドと S1P は細胞増殖・生存ならびに細胞死誘導において相互に深く関連して機能しており<sup>32</sup>、最近では、細胞膜上の構造維持機構での相互作用についても注目されつつある(Fig. 16)<sup>37</sup>。

このようにセラミドは重要な化合物であると考えられその生物活性や、合成法において多くの報告がなされている<sup>38,39</sup>。

## セラミドの合成

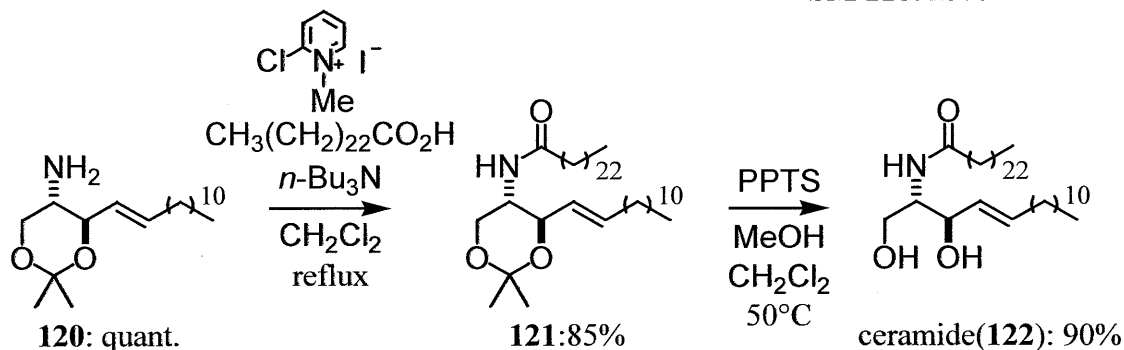
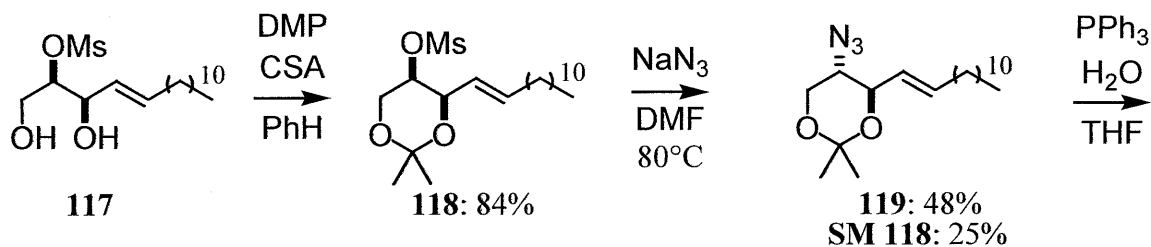


**Scheme 18**

本研究では Koike らの合成法を用いてセラミドの合成を行った<sup>39</sup>。ジアセトングルコースを出発原料とし既知の方法によりアルデヒド(**155**)に誘導し、1-ブロモドデカンとトリフェニルホスフィンから調整した Wittig 試薬を用いて、*E,Z* 体(25%:53%)の混じりのオレフィン体(**113**)を得た。これら *E,Z* 体の混じりをジフェニルジスルフィドを用い、高圧水銀灯下(500W)で反応させることで目的の *E* 体を 98%の収率で得た。その後アルコールを Ms 基で保護し酢酸によるアセタールの脱保護、次にジオール体(**116**)の過ヨウ素酸酸化により得られるアルデヒドを単離することなく、テトラヒドロホウ酸ナトリウムにより還元した (Scheme 18)。

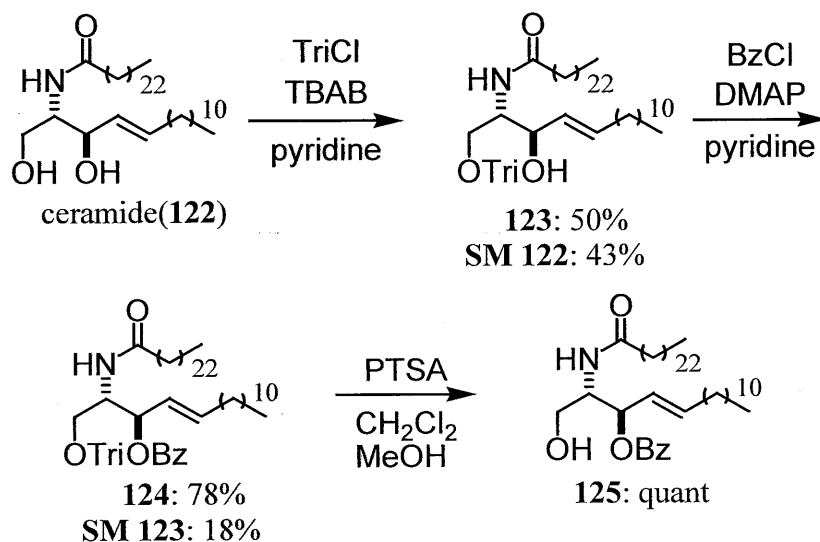
Koike らの合成法において **117** の水酸基をエトキシエチル基で保護していたが、エトキシエチル基は酸に弱くシリカゲルカラムクロマトグラフィー中に脱保護されてしまう。またエトキシエチル基は位置異性体とジアステレオマーの 3 種類が存在し、複数の立体異性体の混じりであるため、クロマトグラフィーにおいて目的物が多点で得られてくる。更に構造決定においても複数の立体異性体混じりのため同定は困難で、目的の化合物と共雑物の区別も容易ではない。このように精製及び構造決定において問題点を有しているため、合成法の改良として、エトキシエチル基で保護していたジオール体(**117**)をアセタールで保護し、これにより酸への耐性も向上し、立体異性体も存在せず問題点を改善できる。そこで 1,3-ジオール体(**117**)の水酸基をアセタールで保護し、アジ化ナトリウムを用いた  $S_N2$  反応によりアジド基を導入した。次にアジド還元方法のテトラヒドロホウ酸ナトリウムは低収率で、Lindlar 触媒ではオレフィンも還元された。そこでトリフェニルホスフィンと水を用いた Staudinger 還元を行ったとこ





Scheme 19

ろ収率良くアミノ基へと変換できたが、反応により生成されるトリフェニルホスフィンオキシドと目的物(168)のシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる分離ができなかった。そこで 168 とトリフェニルホスフィンオキシドの混合物をこれまでと同様に向山のアミド合成法を行ったところ、収率良く反応が進行しトリフェニルホスフィンオキシドとの分離もできた。その後ピリジニウム *p*-トルエンスルホン酸を用いてアセタールを脱保護しセラミド(122)へと誘導した(Scheme 19)。122 が得られたので次にアミダイトユニットへと変換すべく、ジオールの一級水酸基にのみ保護基の導入を試みた。トリチル化の反応加速剤として、TBAB を使い、その後 2 級水酸基のベンゾイル化は、4 等量の BzCl と DMAP を等量用いることで収率良く進行した。トリチル基の脱保護は高収率で進行し、末端水酸基のみ脱保護されたセラミド(125)を得、IPC や CJP2 のセラミドフラグメントを合成した(Scheme 20)。



Scheme 20

## シアル酸フラグメント合成法の開発

### シアル酸の生物活性及びその機能

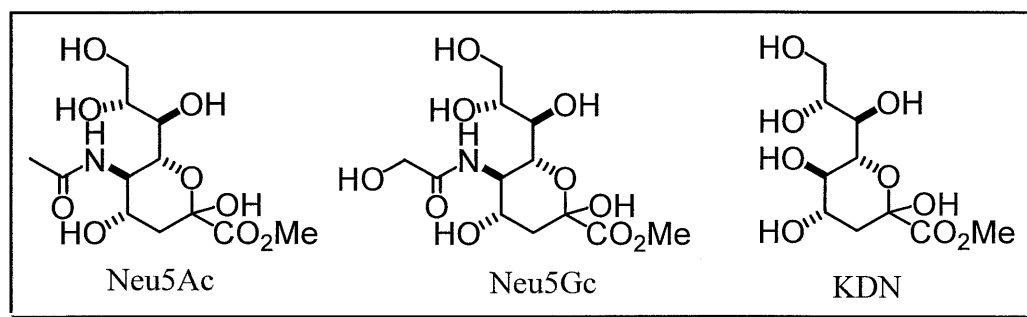


Fig. 17

シアル酸は9つの骨格炭素からなるカルボキシル基をもつ2-ケト-3-デオキシノノン酸の総称であり、多数の分子種を有し 5-acetylneuraminic acid(Neu5Ac)、5-glycolylneuraminic acid(Neu5Gc)、2-keto-3-deoxy-D-glycero-D-galacto-nononic acid(KDN)の3大分子種、およびそれらのアセチル化、ラクチル化、硫酸化などの修飾シアル酸が知られている(Fig. 17)。この分子種多様性は、他の単糖にはない特徴で、シアル酸が独特な生物学的機能をもつと考えられている理由の一つである。またシアル酸は動物細胞に含まれており、糖タンパクや糖脂質の末端に結合して存在し、これらシアル酸誘導体は細胞の分化・増殖に関わっている。さらに近年細菌やウイルス等の接着阻害活性、免疫グロブリン産生促進など多様な生理作用が報告され始め、細胞表面の修復や、抗炎症剤、制ガン剤の開発に大きく関わってきている。

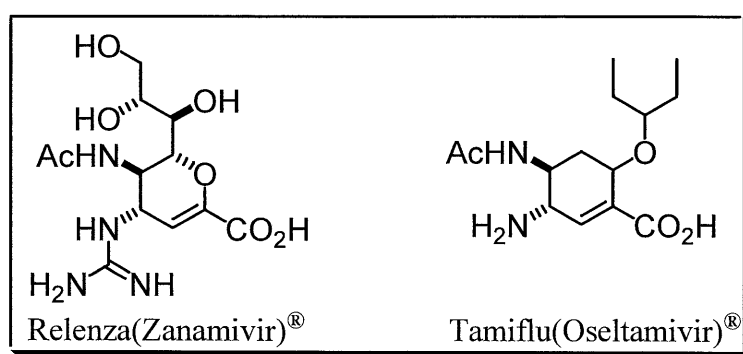


Fig. 18

近年特にインフルエンザ治療薬として知られる Relenza<sup>®</sup>、Tamiflu<sup>®</sup>はノイラミニダーゼ阻害剤として、活性を有するシアル酸から誘導されてきた化合物である(Fig. 18)<sup>40</sup>。このように近年にシアル酸の多様性を更に増大させるような発見が相次いでなされており、それに伴ってシアル酸の構造多様性の生物学的意義を明確にする研究が求められている。

シアル酸フラグメントの逆合成解析

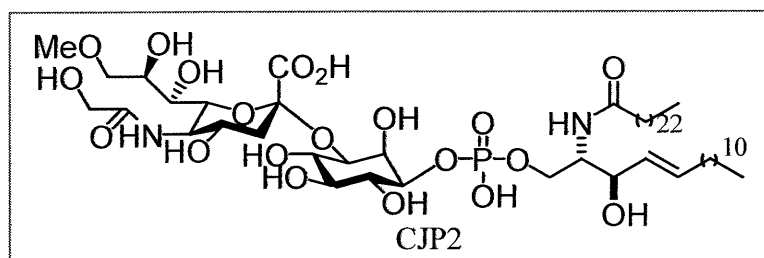


Fig. 19

最終目標として CJP2 の合成を目標としているために、シアル酸グリコシルドナーとなりえる化合物の合成を行わなければならない(Fig. 19)。そこで近年  $\alpha$  選択的なグリコシルドナーとして知られている、*N*-Troc のチアロシド体を先ず合成目標とし<sup>72</sup>、このチアロシド体へ容易に変換可能なグリカル誘導体を合成する。

逆合成解析として、グリカールのオレフィンに 1,7-ジエンの閉環メタセシスにより構築し、ジエンの一方のオレフィンにロジウムを用いたアルコールへのマロニル基の導入、その後 Eschenmosersalt を用いて構築し、もう一方のオレフィンにアノマー位での Wittig 反応、続く Sharpless の不斉エポキシ化反応を経て目的の立体化学を有する水酸基を導入しつつ構築する(Fig. 20)。

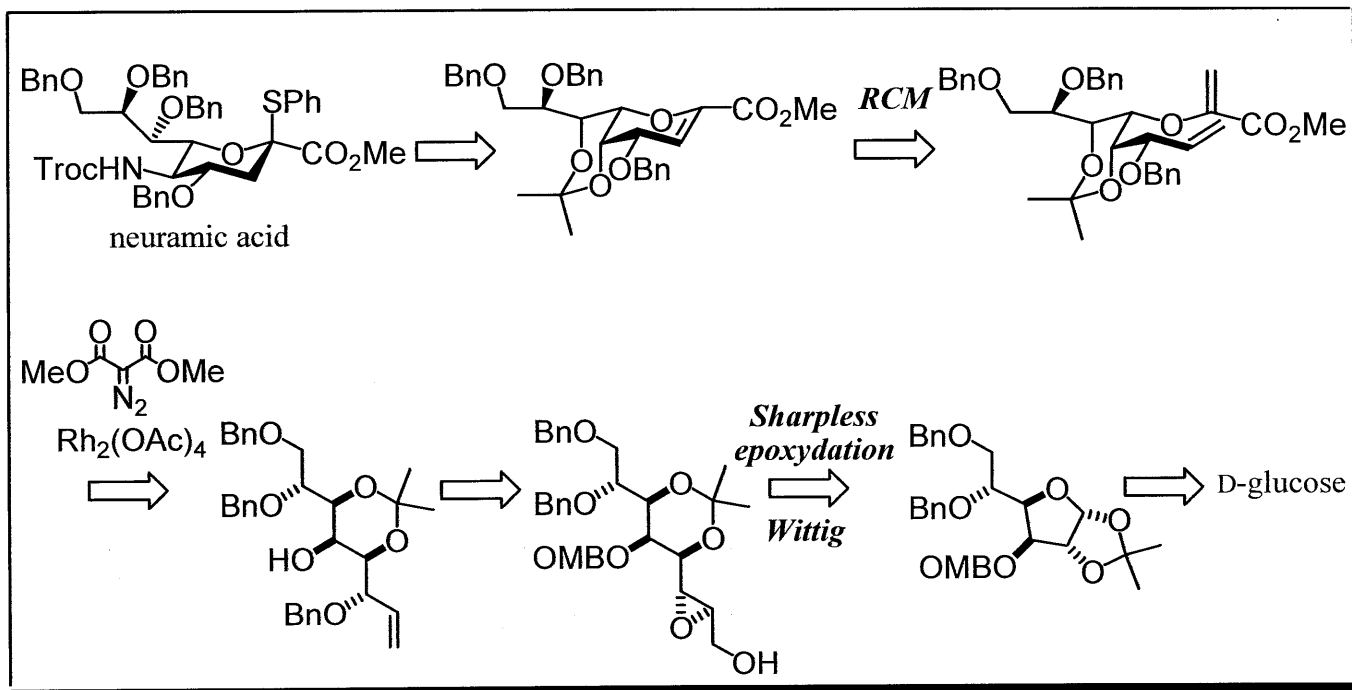
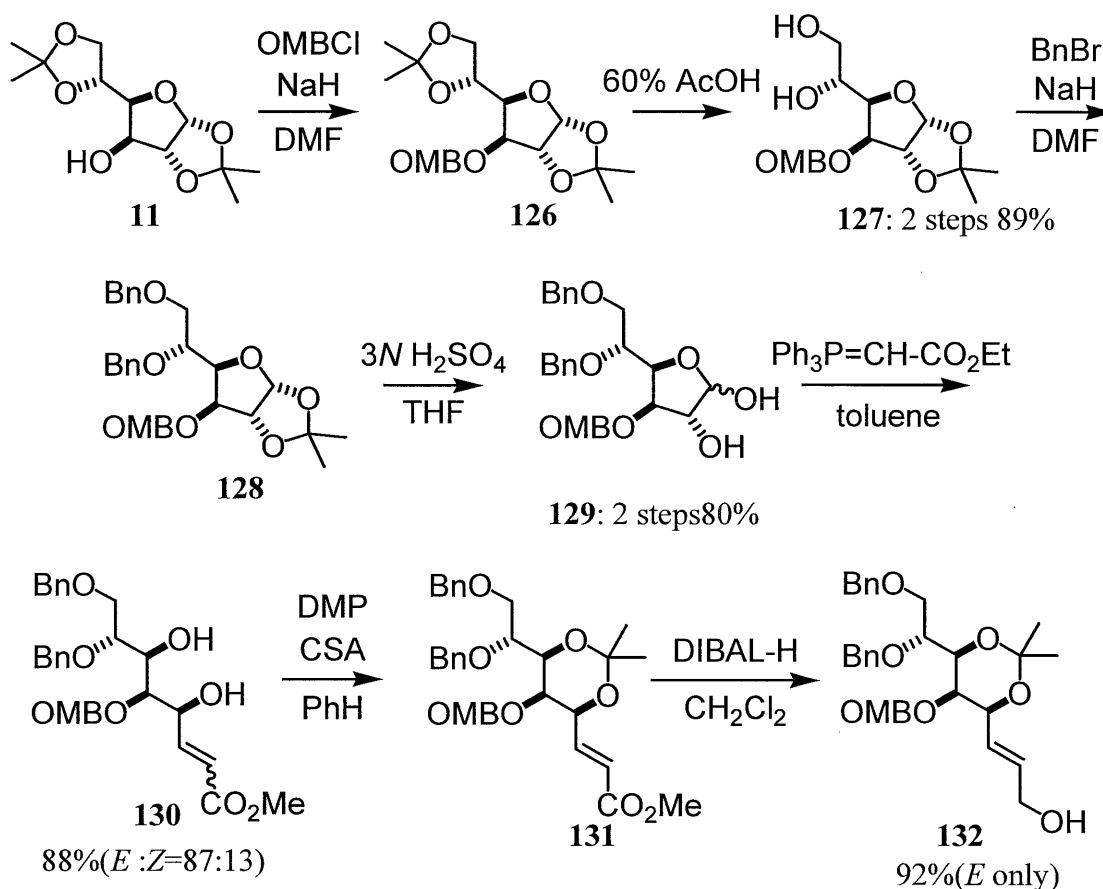


Fig. 20

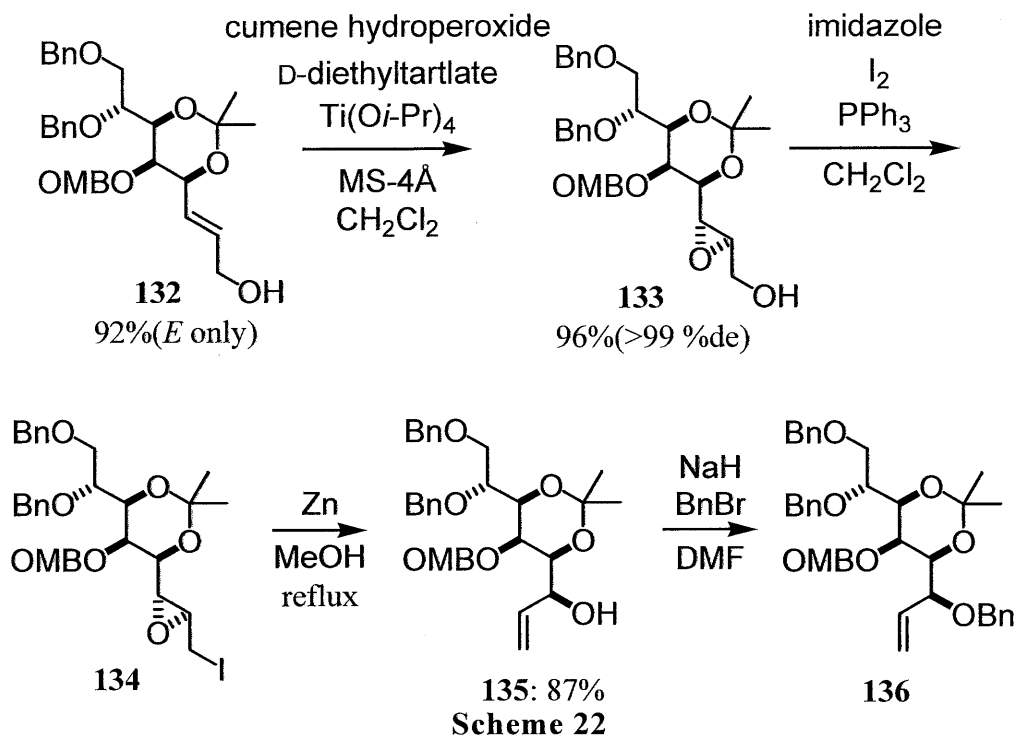
## シアル酸グリカールの合成

### アリルアルコール部の構築



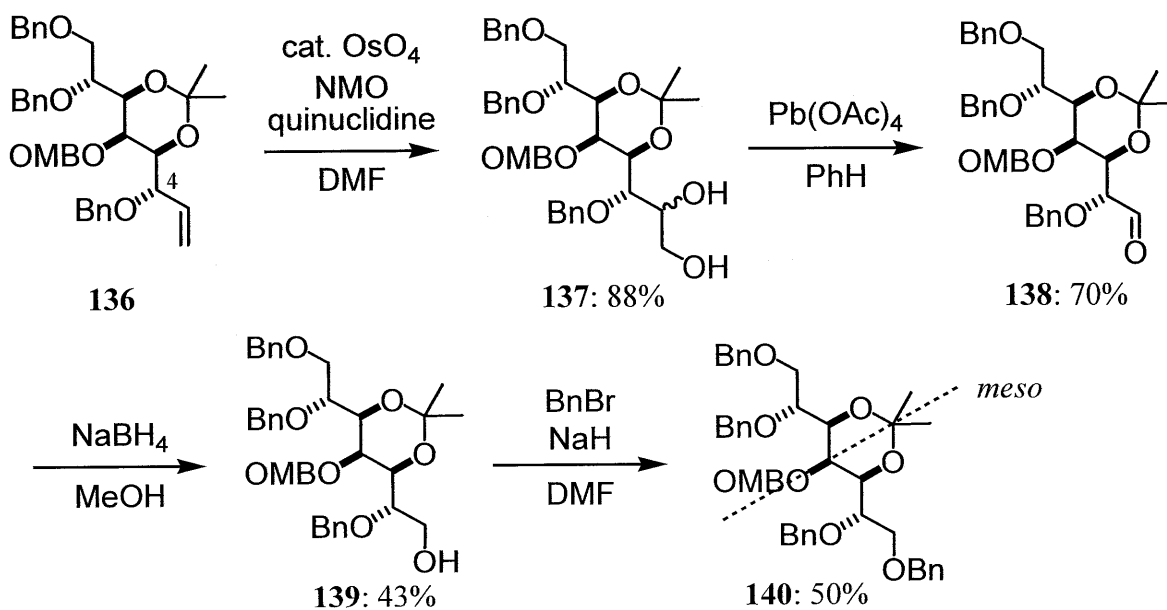
Scheme 21

ジアセトングルコースから **Scheme 2** の方法を用いて **127** へと誘導し、ジオールに Bn 基を導入の後、アセタールの脱保護を行い脱アセタール体(**129**)を得た。続くアノマー位での Wittig 反応による不飽和オレフィンの構築、直ちに酸触媒を用いたアセタールの保護で *E* 体だけの **131** を得、その後エステルを DIBAL-H にて還元しアリルアルコール体(**132**)へ誘導した(**Scheme 21**)。次にアリルアルコール体(**132**)の Sharpless の不斉エポキシ化反応を行い、エポキシ体(**133**)を高い選択性で得、末端アルコールのヨウ素化の後、亜鉛を用いた脱離反応により得られたアリル位水酸基を Bn 基で保護し、OMB を DDQ にて脱保護した(**Scheme 22**)。

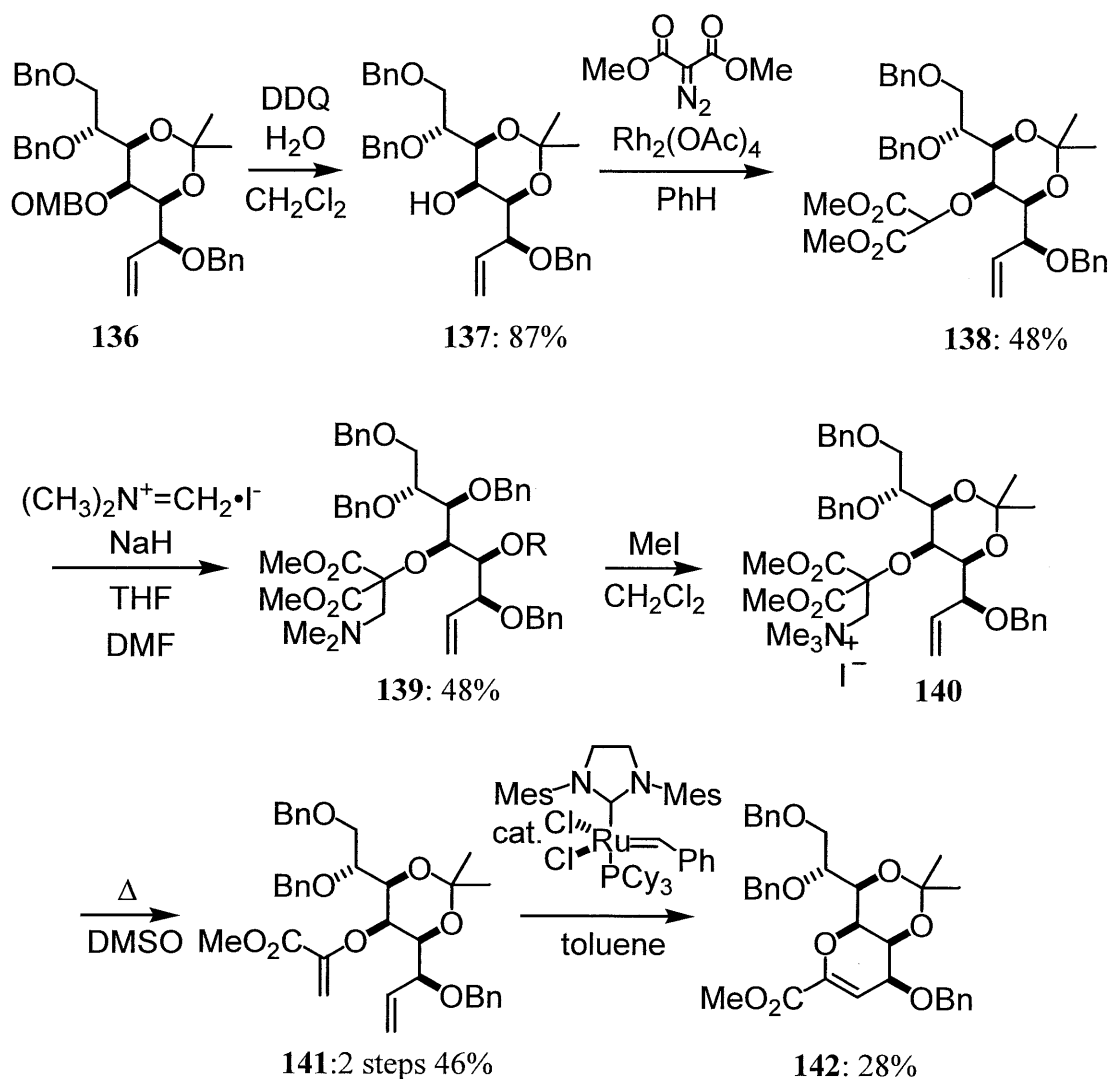


### 立体化学の決定

ここで新たに構築したシアル酸の4位となる水酸基の立体配置の決定を行うこととした。まず **136** の末端のオレフィンに四酸化オスミウムによりジオール化し、その後酢酸鉛を用いてジオール(**137**)を開裂させアルデヒド(**138**)へと変換の後  $\text{NaBH}_4$ にて還元して得られたアルコール(**139**)を Bn 基で保護した。ここで得られた **140** の旋光度及び NMR 測定により *meso* 体であることから、**136** の4位水酸基の立体化学を確認した(**Scheme 23**)。



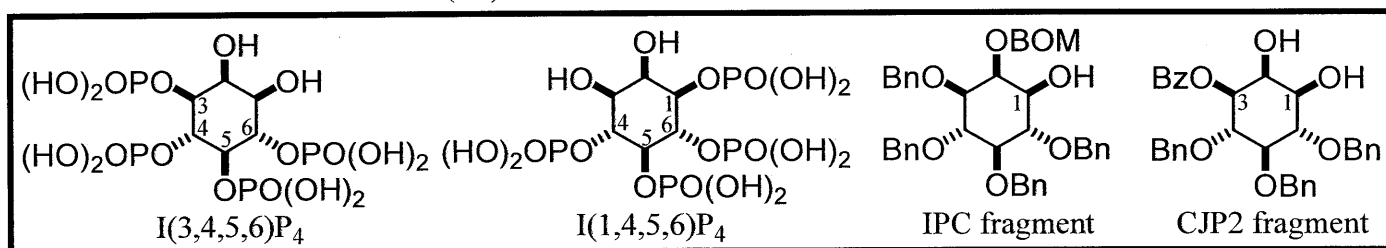
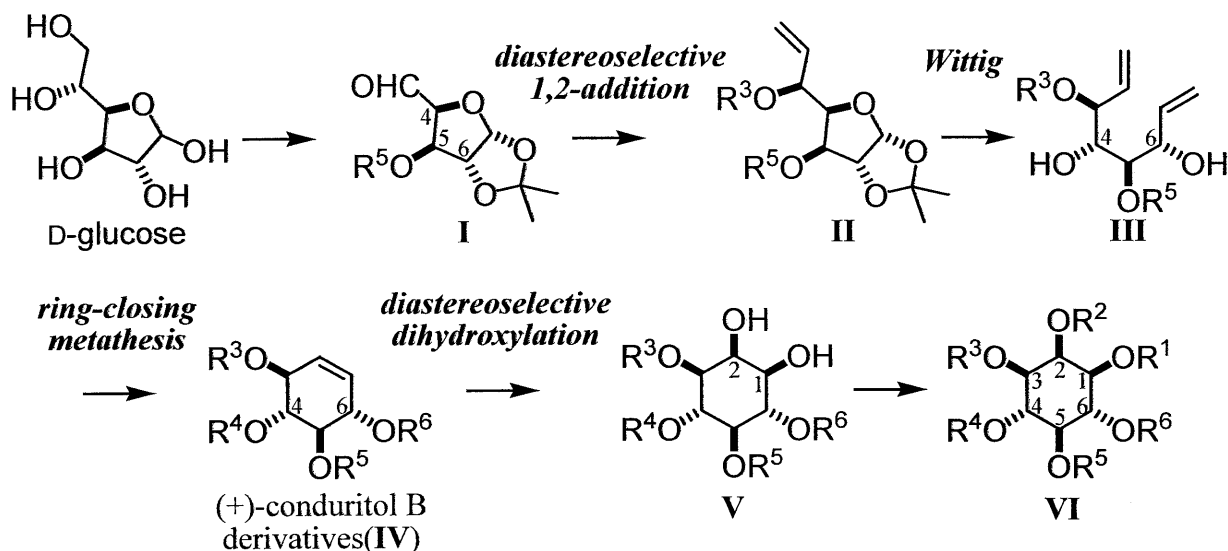
## 1,7-ジエンの構築とその閉環反応



**Scheme 24**

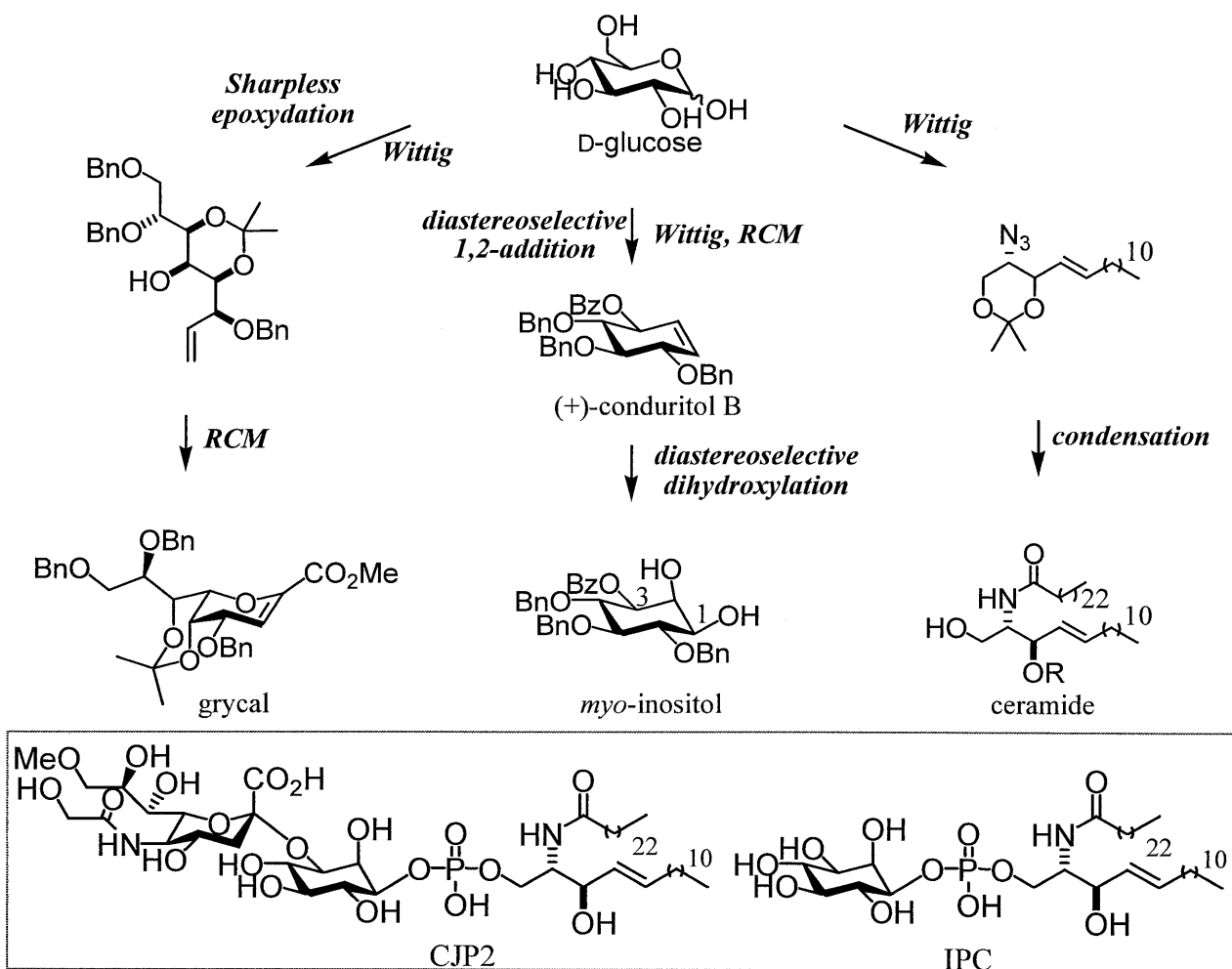
次に閉環メタセシスを行うための2つ目のオレフィンを構築した。まず DDQ を用いて OMB 基を脱保護し、ロジウム触媒を用いた水酸基へのマロニル基の導入は中程度の収率で進行した。その後の Eschenmoser's Salt との反応において、水素化ナトリウムを塩基として用いた場合に中程度で反応が進行し、続くアンモニウム化、DMSO 中での脱離反応により 1,7-ジエン(**141**)を得た。第二世代の Grubbs 触媒<sup>41</sup>を用いた閉環メタセシスにより低収率だが、環化体のシアル酸グリカール誘導体(**142**)を得た(Scheme 24)。

## 結論



D-グルコースから誘導したアルデヒド(I)への有機銅試薬を用いた 1,2-付加により、高いジアステレオ選択性で目的の立体化学を有するアリルアルコール体(II)を得た。その後の Wittig 反応により 1,7-ジエン(III)を構築し、閉環メタセシス(RCM)を経て重要中間体である(+)-コンヅリトール誘導体(IV)を合成した。その後 C<sub>2</sub> 対称な(+)-コンヅリトール誘導体の四酸化オスミウム酸化により、単一の *myo*-イノシトール誘導体を得、I(3,4,5,6)P<sub>4</sub> や IPC のイノシトールフラグメントを得た。また非 C<sub>2</sub> 対称な(+)-コンヅリトール誘導体からは、アリル位水酸基にベンゾイル基を導入することで、ジアステレオ選択的に四酸化オスミウム酸化を行った。これによって所望の水酸基に目的の置換基を有する *myo*-イノシトール誘導体(VI)の合成法を確立し、さらに I(1,4,5,6)P<sub>4</sub> と CJP2 の *myo*-イノシトールフラグメントを合成した。上記合成法の開拓により *myo*-イノシトールの骨格を構築しつつ、水酸基へ段階的に保護基を導入することで、所望の水酸基に目的の置換基を導入が可能となり、種々のリン酸化イノシトールへ展開可能な方法論を確立した。

セラミド、シアル酸の合成においても出発原料を D-グルコースとした合成法を開発した。セラミドフラグメントは既知の方法を改良し、Wittig 反応、光異性化反応、縮合反応を鍵反応として 1,3-ジオールをアセタールで保護することで効率よく目的のセラミドフラグメントを合成した。



シアル酸フラグメントはアノマー位での Wittig 反応、Sharpless の不斉エポキシ化反応により水酸基を高い立体選択性で構築した。その後水酸基へのマロニル基の導入、Eshenmozer's salt を用いて 1,7-ジエンを構築し、第二世代の Grubbs 触媒により閉環メタセシスを行い、種々のシアル酸グリコシルドナーに容易に成りえるシアル酸グリカル誘導体の合成を行った。

以上の合成によりイノシトールホスフェート、ホスファチジルイノシトール、イノシトールホスホセラミドなど生化学的に入手が困難であった種々のイノシトール類を得る方法論を確立した。これによって生化学的評価のサンプルやその類縁体の合成へ展開可能とすることができる。また膜構成成分や、セカンドメッセンジャーとして重要なセラミド、更に多様な分子種を有しその生化学的意義の解明が急がれているシアル酸前駆体の合成を行うことで、ガングリオシドや他の複合糖の合成への展開を広げることができ、糖類の生理機能の解明に貢献できる



## 参考文献

- 1) Mutoh, T.; Tokuda, A.; Miyadai, T.; Hamaguchi, M.; Fujiki, N. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1995**, *92*, 5087.
- 2) Kozireski-Chuback, D.; Wu, G.; Ledeen, RW. *J. Neurosci. Res.* **1999**, *55*, 107.
- 3) Furuse, H.; Waki, H.; Kaneko, K.; Fujii, S.; Miura, M.; Sasaki, H.; Ito, K.; Kato, H.; Ando, S. *Exp. Brain Res.* **1998**, *123*, 307.
- 4) Takamiya, K.; Yamamoto, A.; Furukawa, K.; Yamashiro, S.; Shin, M.; Okada, M.; Fukumoto, S.; Haraguchi, M.; Takeda, N.; Fujimura, K.; Sakae, M.; Kishikawa, M.; Shiku, H.; Furukawa, K.; Aizawa, S. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1996**, *93*, 10662.
- 5) Svennerholm, L. *Life Sci.* **1994**, *55*, 2125.
- 6) Schneider, J. S. *et al, J. Neurosci. Res.* **1995**, *42*, 117.
- 7) a) Yamada, K. *Yakugaku Zasshi* **2002**, *122*, 1133.  
b) Higuchi, R. *ファルマシア* **2002**, *38*, 851.
- 8) Dittmer, J. C.; Lester, R. L. *Lipid Res.* **1964**, *5*, 126.
- 9) Mann, A. F.; Hucklesby, D. P.; Hewitt, E. J. *Anal. Biochem.* **1979**, *96*, 6.
- 10) a) Arao, K.; Inagaki, M.; Higuchi, R. *Chem. Pharm. Bull.* **1999**, *47*, 687.  
b) Arao, K.; Inagaki, M.; Higuchi, R. *Chem. Pharm. Bull.* **2001**, *49*, 695.
- 11) a) Ozaki, S.; Kohno, M.; Nakahira, H. *Chem. Lett.* **1988**, 77.  
b) Stephen J. Mills, Andrew M. Riley, Changsheng Liu, Mary F. Mahon, Barry V. L. Potter *Chem. Eur. J.* **2003**, *9*, 6207.
- 12) Peng, J.; Prestwich, G. D. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3965.
- 13) Watanabe, Y.; Mitani, M.; Morita, T.; Ozaki, S. *Chem. Pharm. Bull.* **1990**, *38*, 562.
- 14) Blum-Held, C.; Bernard, P.; Spiess, B. *J. Am. Chem. Soc.* **2001**, *123*, 3399.
- 15) Kennedy, W. D.; Shomate, C. H.; Parks, G. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1938**, *60*, 1507.
- 16) Sato, F.; Kobayashi, Y.; Takahashi, O.; Chiba, T.; Takeda, Y.; Kusakabe, M. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* **1985**, 1636.
- 17) a) Lewbart, M. L.; Schneuder, J. J. *J. Org. Chem.* **1969**, *34*, 3505.  
b) Tyler, P. C.; Demailly, G.; Chapleur, Y. *Can. J. Chem.* **1983**, *61*, 634
- 18) Grubbs, R. H.; Chang, S. *Tetrahedron* **1998**, *54*, 4413.
- 19) Akiyama, T. *et al. Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1983**, *66*, 3760.
- 20) Bannwarth, W.; Trzeciak, A. *Helv. Chim. Acta.* **1987**, *70*, 175.
- 21) Blades, K. *et al. Tetrahedron Lett.* **2000**, *41*, 4701.
- 22) Donohoe, T. J., Blades, K., Helliwel, M., *J. Chem. Soc., Chem. Commun.*, **1999**, 1733.
- 23) Nakajima, N.; Horita, K.; Abe, R.; Yonemitsu, O. *Tetrahedron Lett.* **1988**, *29*, 4139.

- 24) Kearns, G. B.; McGee, P. T.; Mayinger, P.; Gedvilaite, A.; Phillips, E. S.; Kagiwada, S.; Bankaitls, A. V. *Nature* **1997**, *387*, 101.
- 25) Nagiec, M. M.; Nagiec, E. E.; Baltisberger, A. J.; Wells, B. G.; Lester, L. R.; Dickson, C. R. *J. Biol. Chem.* **1997**, *272*, 9809.
- 26) a) Laura E. Bertello, Maria Júlia M. Alves, Walter Colli, Rosa M. de Lederkremer *Mol. Biochem. Parasitol.* **2004**, *133*, 71.  
 b) Zhong, W.; Jeffries, M. W.; Georgopapadakou, N. H. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2000**, *44*, 651.  
 c) Aeed, P. A.; Sperry, A. E.; Young, C. L.; Nagiec, M. M.; Elhammer, Å. P. *Biochem.* **2004**, *43*, 8483.  
 d) Aoki, K.; Uchiyama, R.; Itonori, S.; Sugita, M.; Che, F.; Isogai, A.; Hada, N.; Hada, J.; Takeda, T.; Kumagai, H. Yamamoto, K. *Biochem. J.* **2004**, *378*, 461.  
 e) Reggiori, F.; Conzelmann, A. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 30550  
 f) Levine, T. P.; Wiggins, C. A. R.; Munro, S. *Mol. Biol. Cell.* **2000**, *11*, 2267
- 27) a) Mandala, S. M.; Thornton, R. A.; Milligan, J.; Rosenbach, M.; Garcia-Calvo, M.; Bull, H. G.; Harris, G.; Abruzzo, G. K.; Flattery, A. M.; Gill, C. J.; Bartizal, K.; Dreikorn, S.; Kurtz, M. B. *J. Biol. Chem.* **1998**, *273*, 14942.  
 b) Wenyan Zhong, Dennis J. Murphy, Nafsika H. Georgopapadakou, *FEBS Letters* **1999**, *463*, 241.
- 28) Bertello, E. L.; Alves, M. M. J.; Colli, W.; de Lederkremer, M. R. *Mol. Biochem. Parasitol* **2004**, *87*, 71.
- 29) a) Okazaki, T.; Kondo, T.; Kitano, T.; Tashima, M. *Cell Signal.* **1998**, *10*, 685.  
 b) Obeid, L.; Hannun, Y. *Sci. Aging Knowledge Environ.* **2003**, PE27.
- 30) Spiegel, S.; Milstien, S. *Nat. Rev. Mol. Cell Biol.* **2003**, *4*, 397.
- 31) 五十嵐靖之: 概説 新しい生理活性脂質スフィンゴシン1-リン酸とその受容体研究の流れと今後の課題. 蛋白質 核酸 酵素, **2002**, *47*, 476.
- 32) Perry, D.; Kolesnick, R. *Cancer. Treat. Res.*, **2003**, *115*, 345.
- 33) Cuvillier, O.; Pirianov, G.; Kleuser, B.; Vanek, P.; Coso, O.; Gutkind, S.; Spiegel, S. *Nature.* **1996**, *381*, 800.
- 34) Kondo, T.; Kitano, T.; Iwai, K.; Watanabe, M.; Taguchi, Y.; Yabu, T.; Umehara, H.; Domae, N.; Uchiyama, T.; Okazaki, T. *Cell Death Differ.* **2002**, *9*, 682.
- 35) 近藤忠一, 岡崎俊朗: 生死におけるセラミド, PI-3 キナーゼのクロストーク. 蛋白質 核酸 酵素, **2002**, *47*, 442.
- 36) 岡崎俊朗, 伊東 信: 概説 セラミド・シグナル機構. 蛋白質 核酸 酵素, **2002**, *47*, 438.

- 37) a) Gulbins, E.; Kolesnick, R. *Oncogene*. **2003**, *22*, 7070.
- 38) a) Kobayashi, S.; Hayashi, T.; Kawasuji, T. *Tetrahedron Lett.* **1994**, *35*, 9573.  
 b) Barrett, G. M. A.; Beall, C. J.; Braddock, C. D.; Flack, K.; Gibson, C. V.; Salter, M. M. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 6508.  
 c) Ganer, P.; Park, M. J. *orgsynth.* **1991**, *70*, 18.  
 d) Triola, G.; Fabria's, G.; Casas, J.; Llebaria, A. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 9926.  
 e) Azuma, H.; Takao, R.; Niuro, H.; Shikata, K.; Tamagaki, S.; Tachibana, T.; Ogino, K. *J. Org. Chem.* **2003**, *68*, 2709.  
 f) Chun, J.; Li, G.; Byun, H.; Bittman, R. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 2600.  
 g) Plettenburg, O.; Bodmer-Narkevitch, V.; Wong, C. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 4559.  
 h) Kiso, M.; Nakamura, A.; Tomita, Y.; Hasegawa, A. *Cabohydr. Res.* **1986**, *158*, 101.
- 39) Koike, K.; Numata, M.; Sugimoto, M.; Nakahara, Y.; Ogawa, T. *Cabohydr. Res.* **1986**, *158*, 113.
- 40) a) Kinoshita, M. *ファルマシア* **2000**, *36*, 1049.  
 b) Colman, P. M.; Varghese, J. N.; Laver, W. G. *Nature*, **1983**, *303*, 41.  
 c) von, Itzstein, M.; Wu, W-Y.; Kok, G. B.; Pegg, M. S.; Dyason, J. C.; Jin, B.; Phan, T. V.; Smythe, M. L.; White, H. F.; Woods, J. W.; Bethell, R. C.; Hotham, V. J.; Cameron, J. M.; Penn, C. R. *Nature*, **1993**, *363*, 418.  
 d) Service, R. F. *Science*, **1997**, *275*, 756.  
 e) Kim, C. U.; Lew, W.; Williams, M. A.; Liu, H.; Zhang, L.; Swaminathan, S.; Bischofberger, N.; Chen, M. S.; Mendel, D. B.; Tai, C. Y.; Laver, W. G.; Stevens, R. *J. Am. Chem. Soc.* **1997**, *119*, 681.  
 f) Babu, Y. S.; Chand, P.; Bantia, S.; Kotian, P.; Dehghani, A.; El-Kattan, Y.; Lin, T-H.; Hutchison, T. L.; Elliott, A. J.; Parker, C. D.; Ananth, S. L.; Horn, L. L.; Laver, G. W.; Montgomery, J. A. *J. Med. Chem.* **2000**, *43*, 3482.  
 g) Wang, G. T.; Chen, Y.; Wang, S.; Gentles, R.; Sowin, T.; Kati, W.; Muchmore, S.; Giranda, V.; Stewart, K.; Sham, H.; Kempf, D.; Laver, W. G. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 1192.  
 h) Hanessian, S.; Bayrakdrarian, M.; Luo, X. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 4716.
- 41) a) Huang, J.; Stevens, E. D.; Nolan, S. P.; Petersen, J. L. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 2674.  
 b) Scholl, M.; Trnka, T. M.; Morgan, J. P.; Grubbs, R. H. *Tetrahedron Lett.* **1999**, *40*, 2247.  
 c) Weskamp, T.; Kohl, F. J.; Hieringer, W.; Gleich, D.; Herrmann, W. A. *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* **1999**, *38*, 2416.