

## 生体触媒による物質変換を基盤とした天然物合成

秋田 弘幸

## Natural Products Syntheses Based on the Biotransformation Using Biocatalyst

Hiroyuki AKITA

Faculty of Pharmaceutical Sciences, Toho University, 2-2-1 Miyama,  
Funabashi, Chiba 274-8510, Japan

(Received September 14, 2010)

This review summarizes the chemoenzymatic synthesis of the biologically active natural products based on a combination of chemical diastereoselectivity and enzymatic enantioselectivity using biocatalyst. Asymmetric reduction of 2-methyl-3-keto ester with yeast gave the optically active *syn*-2-methyl-3-hydroxy ester, which was converted to natural product such as (–)-oudemansin B. Asymmetric hydrolysis of 3-acetoxy-2-methyl esters possessing *syn*- or *anti*-structure afforded the optically active 3-hydroxy-2-methyl esters and 3-acetoxy-2-methyl esters corresponding to the starting material. One of these optically active 3-hydroxy-2-methyl esters was converted to aglycone of macrolide, venturicidins A and B possessing 10 chiral centers. Both primary alcohols possessing a chiral center at  $\beta$ -position of hydroxyl group and secondary alcohols were subjected to the lipase-assisted acylation in the presence of acyl donor to afford the optically active esters and the optically active alcohols corresponding to the starting material. These optically active compounds were converted to the biologically active natural products such as bisabolane type sesquiterpenes, decaline type diterpenes or triterpenes, nikkomycin B, (+)-asperlin, (–)-chuangxinmycin, (–)-indolmycin, cystothiazoles melithiazols, myxothiazols and piericidins possessing antifungal and cytotoxic activities, inhibition of NADH oxidation, *etc.* Reaction of primary alcohol and glucose using immobilized  $\beta$ -glucosidase gave alkyl  $\beta$ -glucosides in high yield. Pentaacetate of allyl  $\beta$ -glucoside was subjected to Mizoroki-Heck type reaction with phenylboronic acid derivatives to give phenylpropenoid  $\beta$ -D-glucopyranosid congeners.

**Key words**—biocatalyst; lipase-catalyzed resolution; enzymatic  $\beta$ -glucosidation; chemoenzymatic synthesis; natural product synthesis; antibiotic

## 1. はじめに

筆者は昭和 39 年 4 月に九州大学に入学し、昭和 42 年 4 月に瀧名政和教授の主宰していた薬学部薬化学教室へ配属され、卒業研究に続いて大学院修士課程の計 3 年間で過ごしました。その後理化学研究所（理研）へ就職し 21 年間勤務後、東邦大学薬学部で 19 年間奉職することになりました。その間の研究については、これまでいくつかの総説に書きました。本稿では、生体触媒による物質変換を基盤とした天然物合成について概観させて頂き、詳細については文献等を参照して頂ければ幸いです。瀧名先生から与えられた研究のテーマは「1,8-naphthyr-

dine 骨格を有する norinalidixic acid の合成」でした。修士修了後は理研の田原 昭研究室（有機合成化学研究室）へ行くように薦められ、理研での研究テーマは松脂（松ヤニ）の有効利用に関するものでした。安価に得られる松脂（主成分は *l*-abietic acid）から容易に得られる dehydroabietic acid を原料にして生理活性を有する化合物（天然物を含む）へ変換することでした。<sup>1)</sup>「デヒドロアビエチン酸誘導体の基礎反応—ニトロ化及び塩化アルミニウムとの反応—」という題目で学位取得しましたが直前に田原 昭主任研究員が亡くなられ、研究は「三環性を有する dehydroabietic acid 誘導体からその芳香性 C 環が開裂した双環性ジテルペン系又はセスキテルペン系化合物への合成」へと発展しました。<sup>2)</sup> その間、昭和 53 年 8 月にコロンビア大学化学科中西香爾先生の下に博士研究員として 2 年間留学することになり、そこでは視覚の発現メカニズムの解明を目的と

東邦大学薬学部（〒274-8510 千葉県船橋市三山 2-2-1）  
現所属：日本薬科大学（〒362-0806 埼玉県北足立郡伊奈町小室 10281）

e-mail: hiroakita@nichiyaku.ac.jp

本総説は、平成 21 年度退職にあたり在職中の業績を中心に記述されたものである。

した生物有機化学的研究に従事することになりました。1958年 Hubbard と Kropf によって唱えられた“視興奮は光によるロドプシン中の 11-*cis*-retinal から all-*trans* 型への異性化から始まる”という異性化説を有機化学的手法を用いて初めて実証し、視興奮を起こすための最初の引き金は光誘起による異性化であることを明らかにすることができました。<sup>3)</sup> 帰国後、大石 武主任研究員より与えられたテーマは erythromycin を始めとするポリオキソ系天然物を合成するためにはどうしてもその出発原料として 2 個の不斉中心を有する光学活性合成原料 (キラル合成素子) が必要であり、それをパン酵母等の微生物の持つ物質変換機能を利用して合成したらどうかということでした。このような理由から生体触媒による物質変換を基盤とした天然物合成の研究を開始しました。

## 2. 微生物還元を用いるキラル合成素子の創製とその応用

まず (±)-furano-3-keto-2-methyl ester **1** についてパン酵母による還元を試みましたが反応は全く進行しませんでした。そこで科研製薬から提供して頂いた 40 種類の酵母類<sup>4)</sup> を用いて微生物変換反応に付したところ、ある種の酵母で反応が進行することがわかりました。次に問題となることは生成物の分離、立体構造の決定、光学純度の決定等でしたがこの問題は以下のような方法で解決することができました。(±)-**1** を化学的に還元し、得られた 4 種類の (±)-3-hydroxy-2-methyl ester **2a-d** (Fig. 1) を混合物のまま相当する (+)- $\alpha$ -methoxy- $\alpha$ -trifluoromethyl acetate ((+)-MTPA) に誘導しました。つい得られた 4 種類のジアステレオマー混合物 **3a-d** について 400 MHz NMR を測定したところシフト試薬を添加することなく、特定のシグナル (例えばエステルメチル基の一重線) がはっきりと分離して 4 本に現れました。別途にシグナルと 4 種類の光学異性体の構造との関係を明らかにすることにより光学純度の決定が可能となりました。このことから種々の酵母を用いた時の結果 (生成物の構造確認、光学純度の決定) が容易にわかるようになり、スクリーニング法を見い出すことができました。<sup>5)</sup> この方法を実際の天然物合成に応用するため、(±)-3-keto-2-methyl ester **4** の *Candida albicans* による不斉還元を試み、得られた (2*R*, 3*S*)-**5** から (-)-

oudemansin **6** を合成しました。光学活性体の合成により (-)-oudemansin **6** の絶対構造を決定することができました (Fig. 1)。<sup>6)</sup>

## 3. 加水分解酵素 (リパーゼ) を用いるキラル合成素子の創製とその応用

微生物還元では反応における基質濃度が 0.1% (g/l) くらいであり、全合成の出発原料の調製法としては改良が求められました。そこで、化学選択的にラセミ体として基質を合成し、それを加水分解酵素 (リパーゼ) により光学分割することを試みました。この場合は基質濃度を最高数パーセントまで上げられることがわかりました。天然有機化合物を中心とする重要な生理活性化合物の大部分は分子中に不斉中心を有し、これらを通常の有機化学的手法で合成すれば、すべてラセミ体となり、光学活性体は得られません。そこで最近キラル中心を有する簡単な化合物 (いわゆるキラル合成素子と呼ぶ) を原料とし、立体選択的の反応を通じて光学活性標的化合物を合成しようとする気運はますます高まっています。これらの光学活性合成原料 (キラル合成素子) の合成には (1) 化学的不斉合成法、(2) ラセミ体の光学分割、(3) 特定のプロキラル化合物への生体触媒 (酵素) による不斉誘導法、(4) 入手容易な光学活性天然物 (例えば、糖、アミノ酸、光学活性カルボン酸) の利用が考えられます。キラルシントンを大量に供給する方法として (4) の場合を除き、生体触媒 (酵素) による不斉誘導法は有用であります。その理由は (4) の場合は入手法に限られているため、標的化合物の合成に当たり、かならずしも有効な供給源とはなり得ません。ところが (3) の場合は標的化合物の合成に当たり、任意に合成原料の選択ができ、また、生体触媒を用いているため、大量供給が可能となる等の利点を有しているためです。不斉合成に使える生体触媒としては補酵素を必要としない加水分解酵素 (リパーゼ等) が最も実用的です。その理由は以下



秋田弘幸

昭和 45 年 3 月九州大学大学院薬学研究科修士課程修了、同年 4 月理化学研究所有機合成化学研究室入所、昭和 53 年 8 月より 2 年間コロンビア大学化学科 (中西香爾教授) へ博士研究員として留学、平成 3 年 4 月より平成 22 年 3 月まで東邦大学薬学部教授、平成 22 年 4 月より日本薬科大学薬学部教授、平成 2 年度日本薬学会奨励賞受賞。

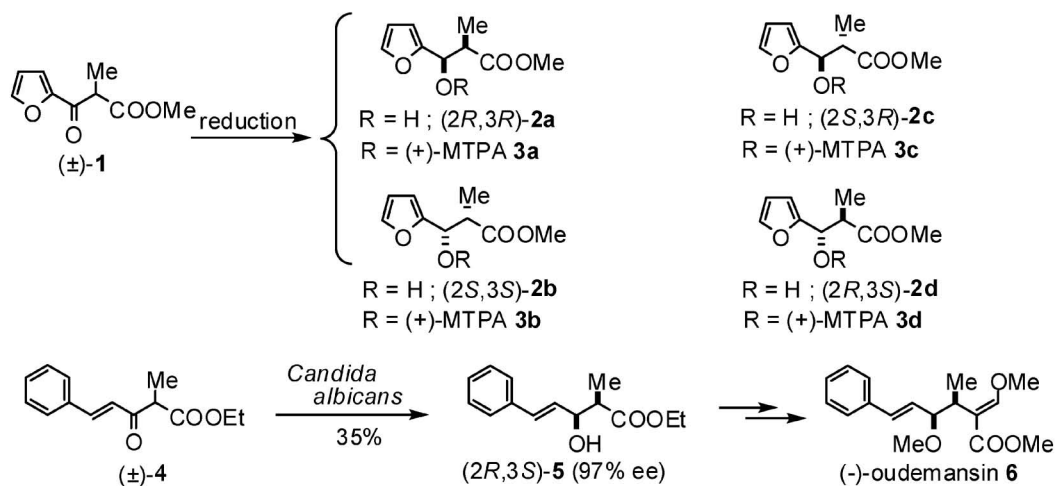


Fig. 1. Microbial Reduction of (±)-2-Methyl-3-Keto Ester with Yeasts

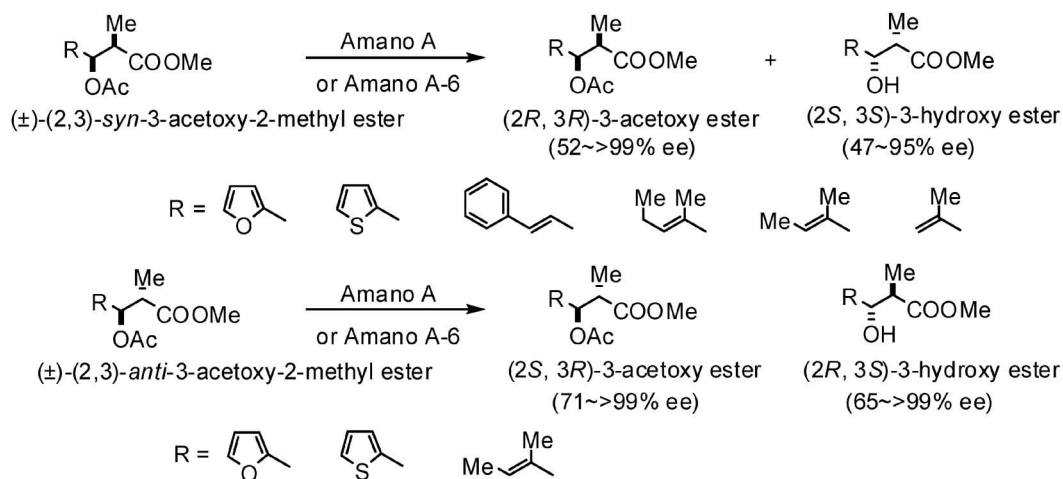


Fig. 2. Asymmetric Hydrolysis of (±)-(2,3)-3-Acetoxy-2-Methyl Ester with Lipases

のようです。(1)種類の異なる微生物由来の酵素活性を有する粗製(工業用)リパーゼが大量に、しかも安価に入手可能であります。(2)基質、リパーゼの種類を変えて広範囲なスクリーニングが可能です。(3)生成物と基質との分離が容易です。(4)多岐にわたる固定化が可能であり、また、遺伝子工学的手法を用いることにより酵素特性を人為的に変化させることが可能です。(5)条件を設定することにより、逆反応であるエステル化も可能であります。

**3-1. Venturicidins A, B のアグリコンの全合成**  
 ラセミの (2,3)-syn-3-acetoxy-2-methyl ester 及び (2,3)-anti-3-acetoxy-2-methyl ester について *Aspergillus* sp. 由来の lipase “Amano A” を用いて速度論支配下の光学分割を試みたところ、加水分解物として (2S, 3S)-3-hydroxy-2-methyl ester 及び (2R,

3S)-3-hydroxy-2-methyl ester が、原料回収に相当する (2R, 3R)-3-acetoxy-2-methyl ester 及び (2S, 3R)-anti-3-acetoxy-2-methyl ester がそれぞれ収率よくかつ高い光学純度で得られることがわかりました (Fig. 2).<sup>7)</sup> この手法を 10 個の不斉中心を有する venturicidins A, B のアグリコン **7** (Fig. 3) の全合成に適用しました。ラセミの 3-keto-2-methyl ester **8** を  $\text{Zn}(\text{BH}_4)_2$  で還元し、syn/anti=16:1 の選択性で目的とする (±)-(2,3)-syn-**9** を得、これをアセチル化して酵素反応の基質となる (±)-(2,3)-syn-**10** を得ました。これについて *Aspergillus* sp. 由来の lipase “Amano A-6” を用いて速度論支配下の光学分割を試みたところ、加水分解物として (2S, 3S)-**9** (35%, 96% ee) が、原料回収に相当する (2R, 3R)-**10** (56%, 62% ee) が得られました (Fig. 3).<sup>8)</sup>

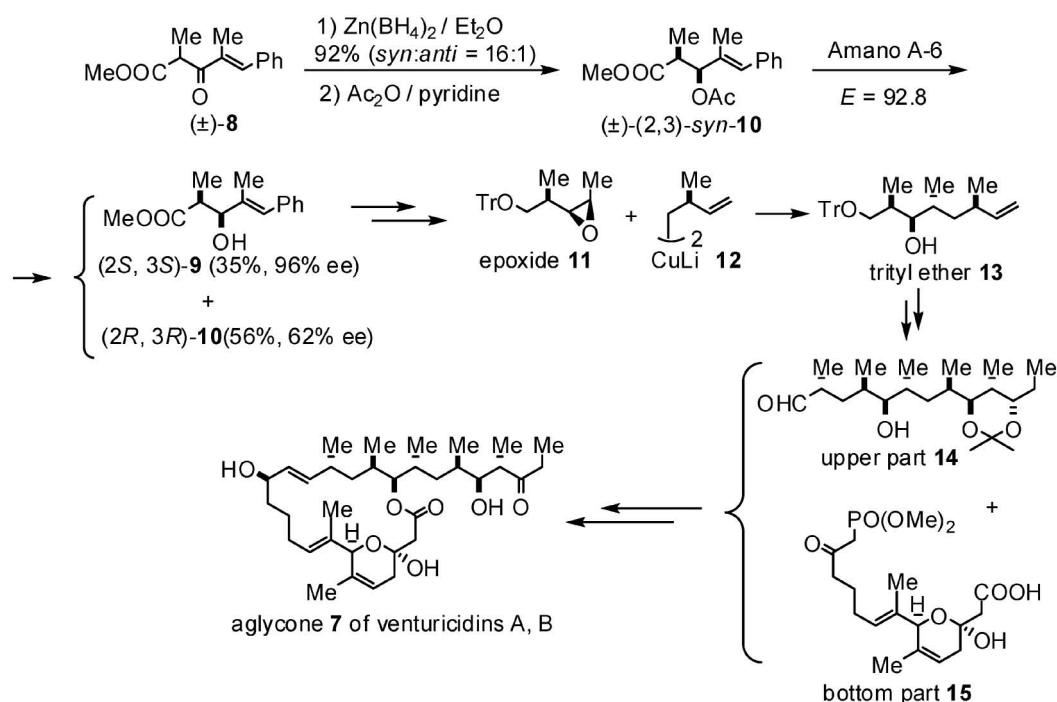


Fig. 3. Total Synthesis of Aglycone 7 of Venturicidins A, B Based on Asymmetric Hydrolysis

(2*S*, 3*S*)-**9** から中田らの方法に従って 3 個の不斉中心を有する epoxide **11** へ導き、これと cupurate **12** との反応で 4 個の不斉中心を有する trityl ether **13** を得ました。**13** の両端からそれぞれ炭素側鎖を伸長して upper part **14** を合成しました。これと別途に合成した bottom part **15** とからエステルを合成後、分子内 Horner-Emons 反応を基盤にして目的天然物の全合成を達成しました (Fig. 3).<sup>9,10)</sup>

**3-2. 固定化酵素を用いる水に難溶性基質の不斉加水分解酵素反応** 水に難溶性基質について酵素反応を行うには有機溶媒中で酵素機能を発現させる必要があります。一般に酵素は疎水性環境下では失活してしまう恐れがありますので固定化酵素にする等、なんらかの対策を講じる必要があります。カルシウム拮抗薬であるジルチアゼム合成上の重要な光学活性中間体 (2*S*, 3*S*)- $\alpha$ -hydroxy ester **16** を作るため、水難溶性基質としてラセミの *syn*- $\alpha$ -chloroacetoxy ester **17** (Fig. 4) を選び、光架橋性樹脂である prepolymer ENTP-4000 で固定化した lipase “Amano P” (*Pseudomonas* sp. 由来) を用いて有機溶媒中で不斉加水分解を試みたところ、目的とする (2*S*, 3*S*)- $\alpha$ -chloroacetoxy ester **17** (48%, 94% ee) が得られましたが、反応を完結させるためには 21 日を要することが判明しました。<sup>11)</sup> そこで反応時間

を短縮すべく種々検討し、合成した種々のエーテル型リン脂質の中で P2NMMO (Fig. 4) と Amano P から調製したリパーゼ/リン脂質会合体を用いて不斉加水分解を試みたところ反応は 2 日で完結し、目的物 (2*S*, 3*S*)-**17** が収率 (49.7%) よくかつ高い光学純度 (>99% ee) で得られました (Fig. 4).<sup>12)</sup>

**3-3. 一級アルコール類の  $\beta$ -位に不斉中心を有する化合物の創製とその応用** 一般に一級アルコール類又はそのアシル体に対する酵素反応では、二級アルコール類のそれに比して不斉収率が低いですが、基質によっては極めて高い不斉収率で光学活性体が得られることを見い出しました。BF<sub>3</sub>·Et<sub>2</sub>O の存在下ラセミの (4,5)-epoxy-*trans*-(2*E*)-pentenoate と電子供与基を有するベンゼン誘導体との反応を基盤にして得られたラセミの 5-acetoxy-4-aryl-(2*E*)-pentenoate (Fig. 5)<sup>13)</sup> の lipase “MY-30” 又は lipase “OF-360” (いずれも *Candida cylindracea* 由来) による不斉加水分解では収率よく高い光学純度の (*R*)-5-acetoxy-4-aryl-(2*E*)-pentenoate と (*S*)-5-hydroxy-4-aryl-(2*E*)-pentenoate が得られました。両者から bisabolane 型セスキテルペンで、抗菌活性を示す (*R*)-curcuphenol **18** と (*R*)-elvirol **19** が、また、胃の H, K-ATPase に対して強い阻害活性を示す (*S*)-curcuphenol **18** や (*S*)-curcudiol **20**, (*S*)-

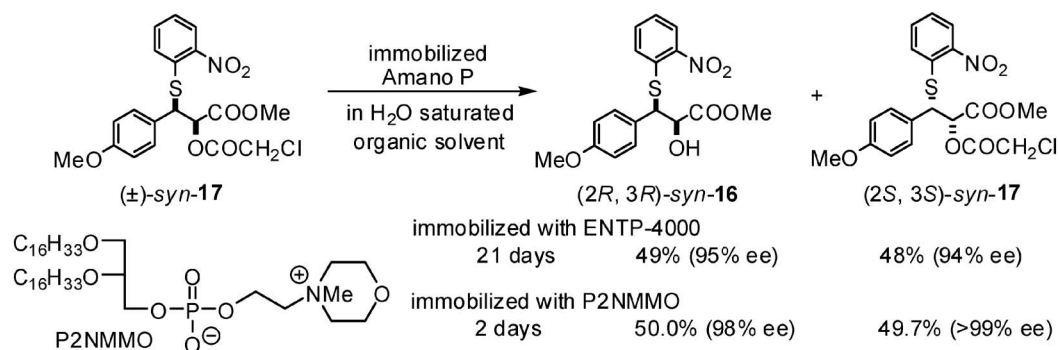
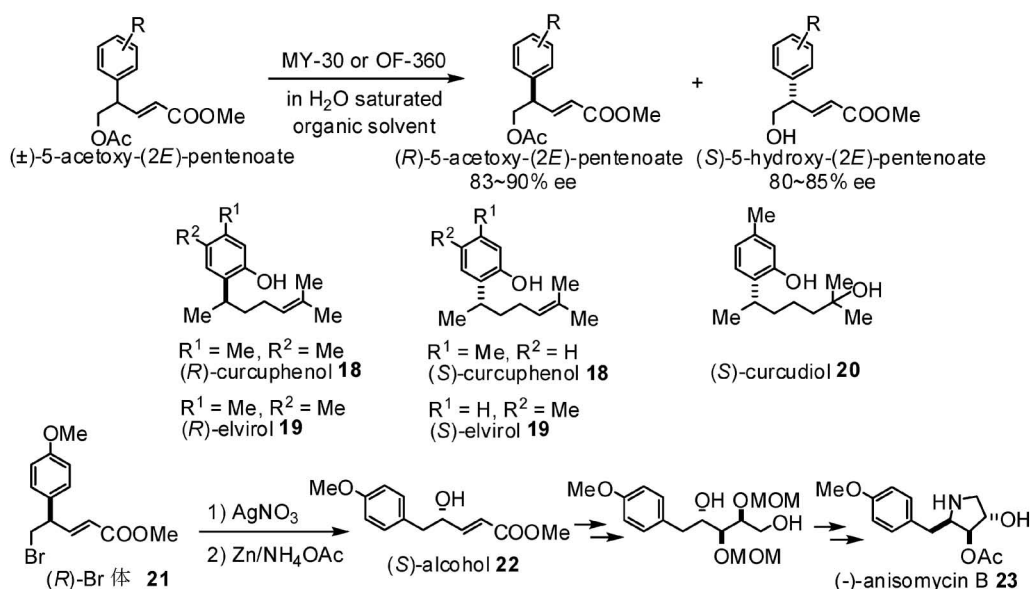


Fig. 4. Asymmetric Hydrolysis of Water-insoluble Substrate with Immobilized Lipases

Fig. 5. Synthesis of (S)- and (R)-curcuphenol **18**, (S)- and (R)-elvirol **19**, (S)-curcudiol **20** and (-)-anisomycin B **23**

elvirol **19** が合成されました。<sup>14)</sup> 一方, (R)-5-acetoxy-4-aryl-(2E)-pentoenoate から誘導された (R)-Br 体 **21** を AgNO<sub>3</sub>, ついで亜鉛で処理すると転位反応が進行して (S)-alcohol **22** が得られ, これより (-)-anisomycin **23** が形式合成されました (Fig. 5).<sup>15)</sup>

次にラセミの albicanol **24** について *Alcalgenes* sp. 由来の lipase “PL-266” を用い, アシル化剤として isopropenyl acetate を用いて不斉アシル化を検討したところ, (8aS)-albicanyl acetate **25** (56%, 67% ee) と (8aR)-**24** (38%, >99% ee) が得られました (Fig. 6).<sup>16)</sup> 67% ee の (8aS)-**25** は加水分解後再度不斉アシル化に付すことにより光学純度を向上させることができました. 一方, アシル化剤として vinyl myristate を用いて不斉アシル化を検討したところ (8aS)-albicanyl myristate **26** (49%, 90% ee)

と (8aR)-**24** (48%, 89% ee) が得られました.<sup>17)</sup> 両者をそれぞれ再度酵素反応に付すことにより光学的に純粋な (8aS)-**24** と (8aR)-**24** を得ることができました. (8aS)-**24** からは 13 種類の天然物が合成できました.<sup>16,18,19)</sup> これらの中に生理活性を有する化合物も多く, (8aS)-albaconol<sup>20)</sup> と (-)-BE-40644 の絶対構造は全合成することにより決定することができました.<sup>21)</sup> 一方, (8aR)-**24** からは (8aR)-copalic acid と (8aR)-copalol が合成されました (Fig. 6).<sup>17)</sup>

次に高価な動物性香料である (+)-ambrein **27** (Fig. 7) の合成を目指してラセミの epoxy albicanol **28** について lipase “MY-30” を用い, アシル化剤として isopropenyl acetate を用いて不斉アシル化を検討したところ, (8aS)-**28** (50%, 91% ee) と (8aR)-epoxy albicanyl acetate **29** (48%, 98% ee) が得られ

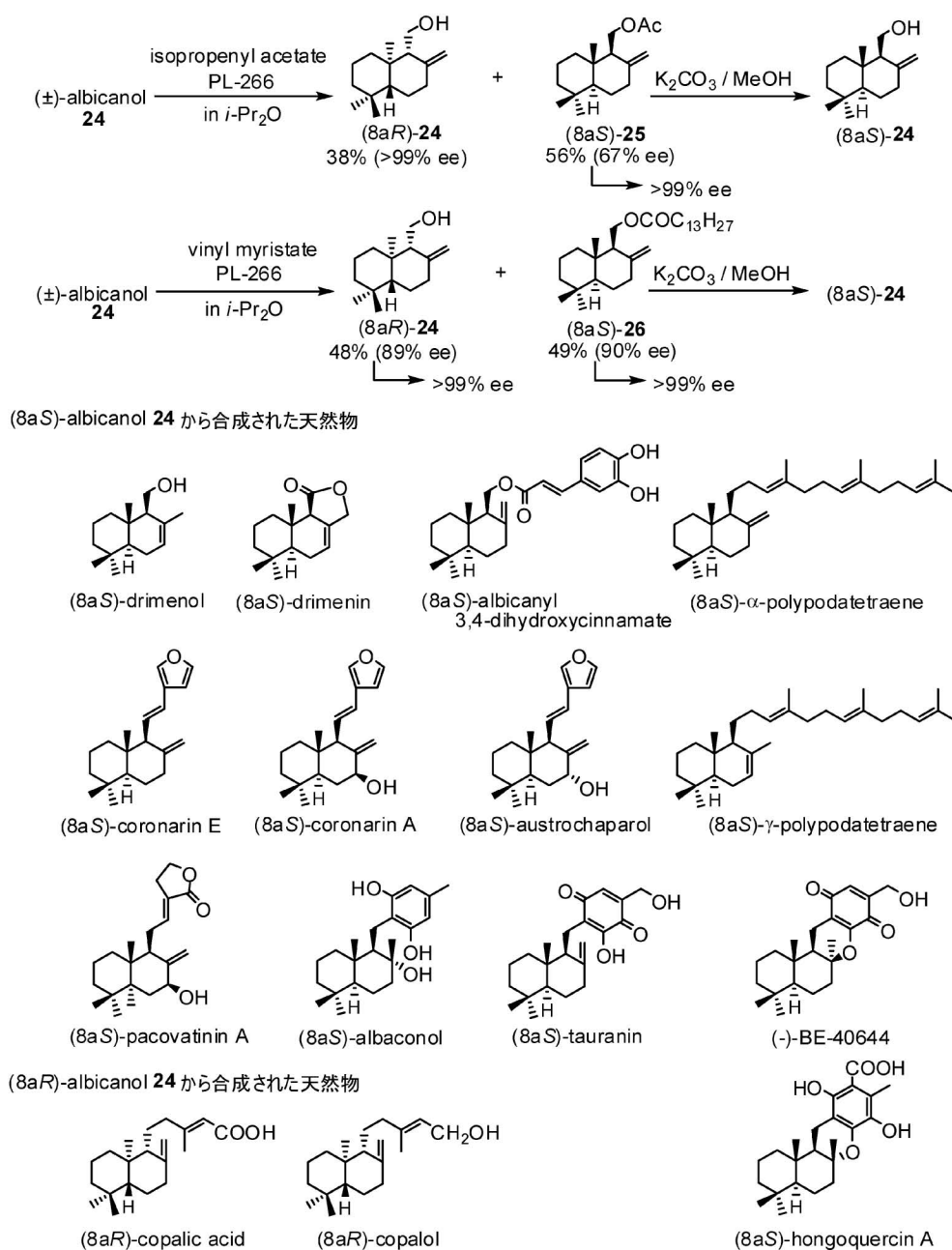
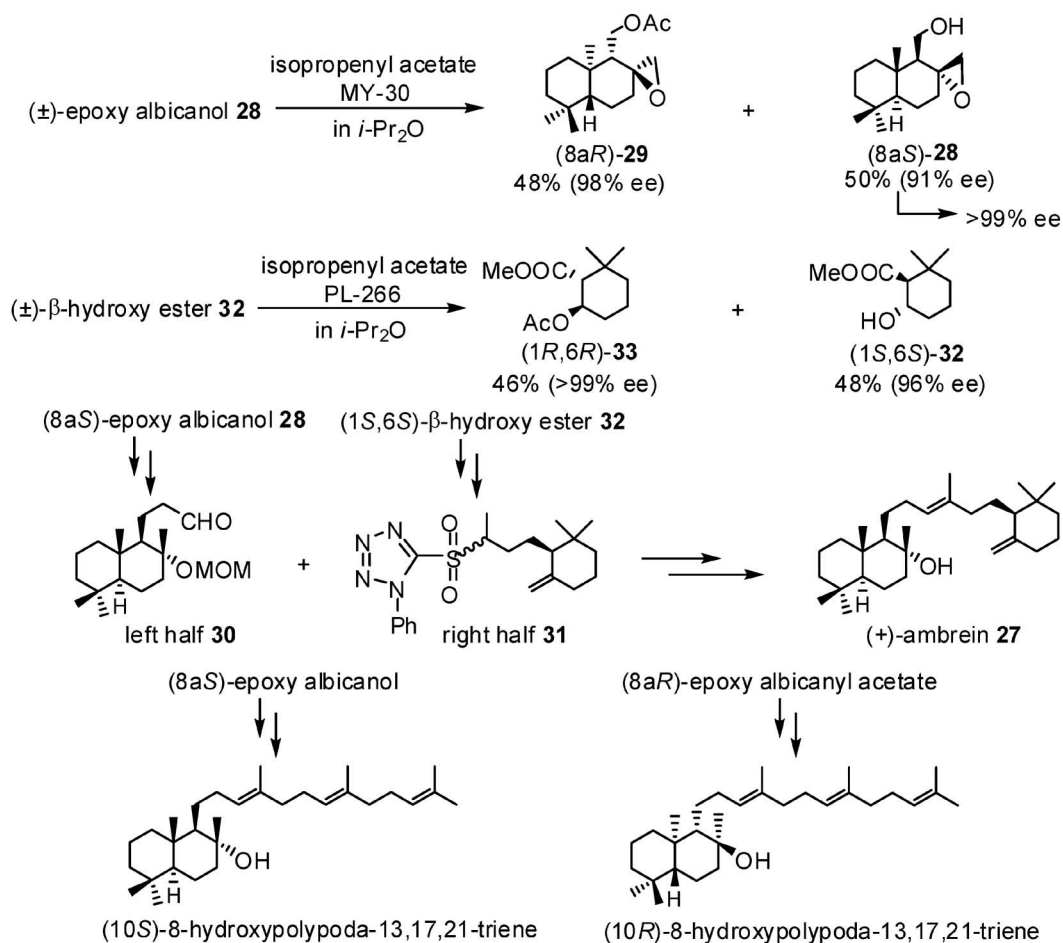


Fig. 6. Asymmetric Acylation of (±)-Albicanol **24** with Lipases and Their Application to Natural Product Synthesis

ました.<sup>22)</sup> 91% ee の (8aS)-**28** は再度不斉アシル化に付すことにより光学純度を向上させることができました。これより左半分に対応するアルデヒド (left half **30**) を合成することができました。右半分に対応する光学活性スルホン (right half **31**) はラセミの  $\beta$ -hydroxy ester **32** の不斉アシル化によって得られた 96% ee の (1S, 6S)-**32** (原料回収に相当) から合成できました。<sup>23)</sup> 両者を Julia coupling に付すことにより (+)-ambrein **27** を合成することができました。<sup>24)</sup> (8aS)-**28** と (8aR)-**29** からはそれぞれ

(10S)-8-hydroxypolypoda-13,17,21-triene 及び (10R)-8-hydroxypolypoda-13,17,21-triene が得られました (Fig. 7).<sup>22)</sup>

次により有効なキラルシントロン (Fig. 8, 例えば (8aS)- 又は (8aR)-enone **34**, (8aS)- 又は (8aR)- $\beta$ -keto ester **35**, (8aS)- 又は (8aR)-bicyclopofarnesol **36** 等) を得るため, ラセミの ketal alcohol **37** について lipase “PL-266” を用いて不斉アシル化を検討したところ (8aS)-ketal acetate **38** (49%, 99% ee) と (8aR)-**37** (49%, 98% ee) が得られました。<sup>25)</sup> 両者

Fig. 7. Synthesis of (+)-Ambrein **27** and Related Natural Products

からは上述した 6 種の有効なキラルシントンが得られ、これらのキラルシントンからは生理活性を有する化合物も含む計 16 種類の天然物を合成することができました (Fig. 8).<sup>26-30)</sup>

**3-4. Nikkomycin B の形式全合成** 8 個の不斉中心を有し、特異な抗菌活性を有する nikkomycin B **39** (Fig. 9) の合成を検討しました。ラセミの 3-keto-2-methyl ester **40** を  $n\text{-Bu}_4\text{NBH}_4$  で還元し、*anti/syn* = 15 : 1 の選択性で目的とする (2,3)-*anti*-3-hydroxy-2-methyl ester を得、これを還元と引き続くアセチル化で酵素反応の基質となるラセミの (2,3)-*anti*-1-acetate (mono acetate **41**) を合成しました。これについて lipase “Amano P” を用いて速度論支配下の光学分割を試みたところ、(2*S*, 3*S*)-**41** (49%, 77% ee) と (2*R*, 3*R*)-1,3-diol **42** (44%, 70% ee) が得られました。77% ee の (2*S*, 3*S*)-**41** は再度不斉加水分解に付すことにより光学純度を向上させることができました。(2*S*, 3*S*)-**41** から左半分に

相当する活性エステル (left half **43**) を合成し、別途に合成した右半分に相当する polyoxin C 誘導体 (right half **44**) と縮合させて nikkomycin B **39** の形式全合成を達成しました (Fig. 9).<sup>31)</sup>

**3-5. 二級アルコールに不斉中心を有する化合物の創製とその応用** 抗糖尿病薬アセトヘキサアミド **45** の還元代謝物が血糖低下作用を示す活性の本体であり、その構造を合成的に証明することを試みました (Fig. 10)。ラセミの hydroxy sulfonamide **47** の lipase “PL-679” 又は lipase “PL-266” を用いる不斉アシルで (*S*)-**47** (91->99% ee) と (*R*)-acetoxysulfonamide **48** (75-99% ee) を得ました。( *S* )-**47** 及び (*R* )-**48** からはそれぞれ (*S* )-acetoxylacetohexamide **49** 及び (*R* )-**49** が、さらに脱保護されて (*S* )-hydroxyacetohexamide **46** 及び (*R* )-**46** が得られました。合成した評品と還元代謝物を比較することにより還元代謝物の構造は (*S* )-hydroxyacetohexamide **46** であると決定することができまし

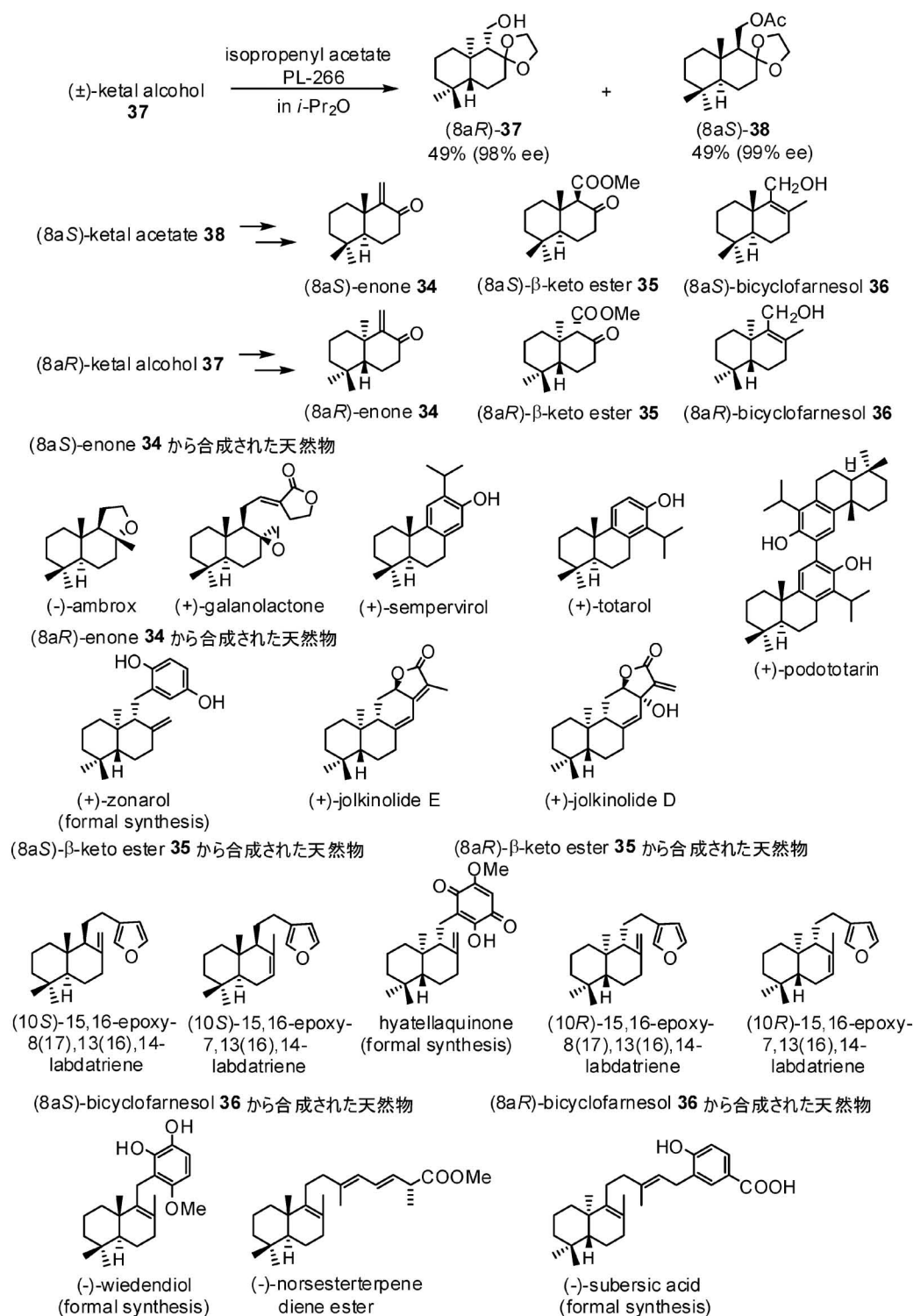


Fig. 8. Asymmetric Acylation of (±)-ketal alcohol **37** with Lipases and Their Application to Natural Products

た.<sup>32)</sup> これらの化合物は親薬物アセトヘキサアミドより強い血糖低下作用を示し、その中でも(*R*)-acetoxyl acetohexamide **49** は短時間型の血糖低下作用を示し、かつ膵臓選択性が高く心臓障害の心配が少ないことが明らかとなりました (Fig. 10).<sup>33)</sup>

3-6. 光学活性な(4,5)-二置換-(2*E*)-ヘキセノエート誘導体の創製とその応用 ソルビン酸エステルから選択的にラセミの(4,5)-*anti*-5-acetoxy-(2*E*)-hexenoate **50** を合成し、その lipase “Amano P” による不斉加水分解を検討し、(4*S*, 5*R*)-5-



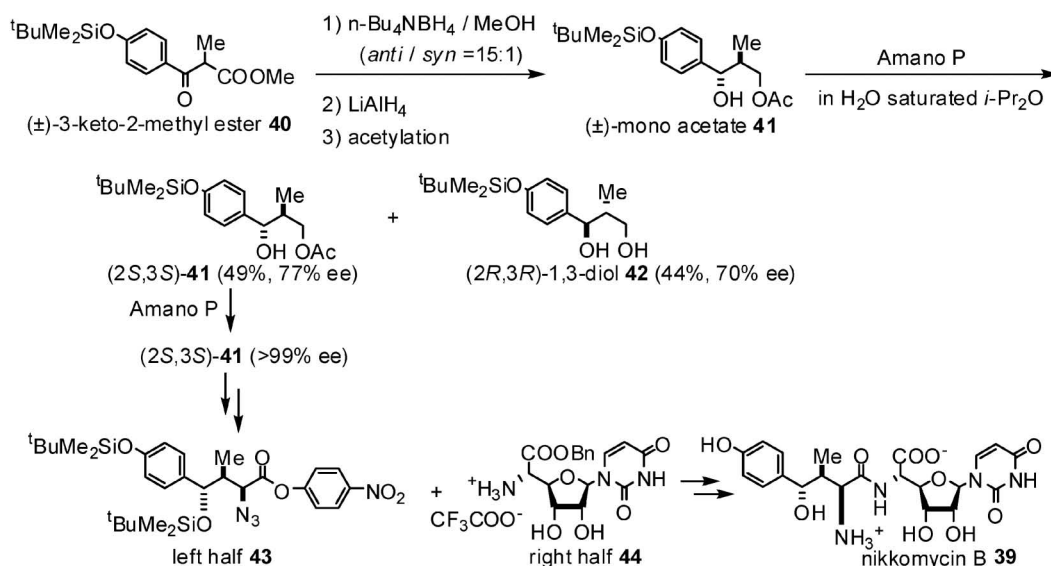
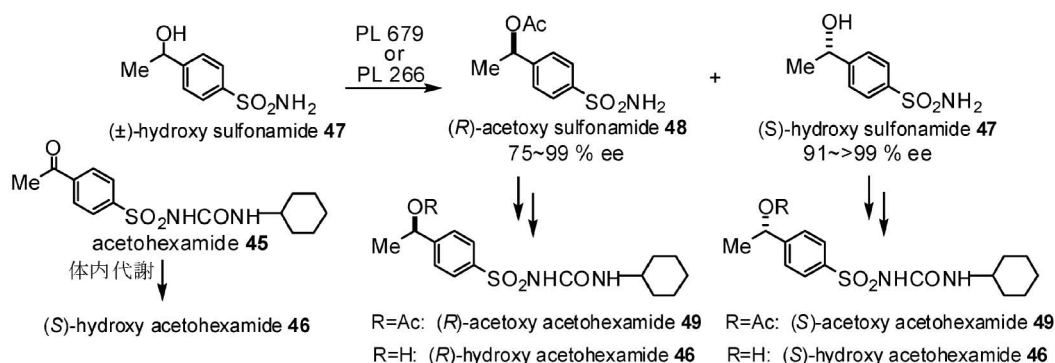
Fig. 9. Formal Total Synthesis of Nikkomycin B **39**

Fig. 10. Determination of Absolute Structure of Metabolite of Acetohexamide

hydroxy-( $2E$ )-hexenoate **51** (44%, >99% ee) と ( $4R, 5S$ )-**50** (48%, >99% ee) を得ました (Fig. 11). 両者からエポキシエステル (( $4S, 5S$ )-epoxy-( $2E$ )-hexenoate **52**, ( $4R, 5R$ )-**52**) が得られました.<sup>34)</sup> ( $4R, 5S$ )-**50** の脱アセチル化によって得られた ( $4R, 5S$ )-**51** を用いて細胞接着阻害作用を示す macrophelide 類 A, C, E, F, G の効率的な合成を行いました.<sup>35-39)</sup> ( $4R, 5S$ )-**51** から得られたカルボン酸 ( $4R, 5S$ )-5-hydroxy-acid **53** に対して 2,4,6-trichloro-benzoyl-chloride/pyridine 系で反応を行うと *trans* から *cis* への異性化を伴って  $\delta$ -ラクトン化 (**54**) が進行し、この反応を利用して天然物 osmundalin の tetraacetate **55** を合成しました.<sup>40)</sup> 一方、( $4S, 5S$ )-**47** に対する benzyl amine のマイケル付加反応を基盤にしてテトラサイクリン系抗生物質ダウノマイシンやアドリアマイシン等の重要な構成糖である L-

daunosamine や L-acosamine を始めとするアミノ糖の形式合成を行いました.<sup>41)</sup> ( $4S, 5S$ )-**52** と anisole から得られた ( $4S, 5S$ )-5-hydroxy-4-aryl-( $2E$ )-hexenoate **56** の tosylate **57** に対して加溶媒分解を行うと高収率で転位体 **58** が得られ,<sup>42)</sup> これより bisabolane 系天然物である ( $R$ )-xanthorhizol を合成しました.<sup>43)</sup> ( $4S, 5S$ )-**56** の同族体である ( $4S, 5S$ )-**59** はリパーゼ CAL-B を用いるラセミの *anti*-**59** の不斉アシル化でも効率的に得られました.<sup>44)</sup> 一方、ラセミの **52** から得られる ( $4,5$ )-*anti*-5-acetoxy-4-azide **61** の不斉加水分解では ( $4S, 5R$ )-*anti*-5-hydroxy-4-azide **62** が高光学純度で得られ、これからは抗生物質 vicenistatin の構成糖である methyl  $\beta$ -D-vicenisaminide が合成されました (Fig. 11).<sup>45)</sup>

3-7. 光学活性な ( $2,3$ )-二置換ブタン酸誘導体の創製とその応用 ラセミの ( $2,3$ )-*anti*-2-acetoxy-3-

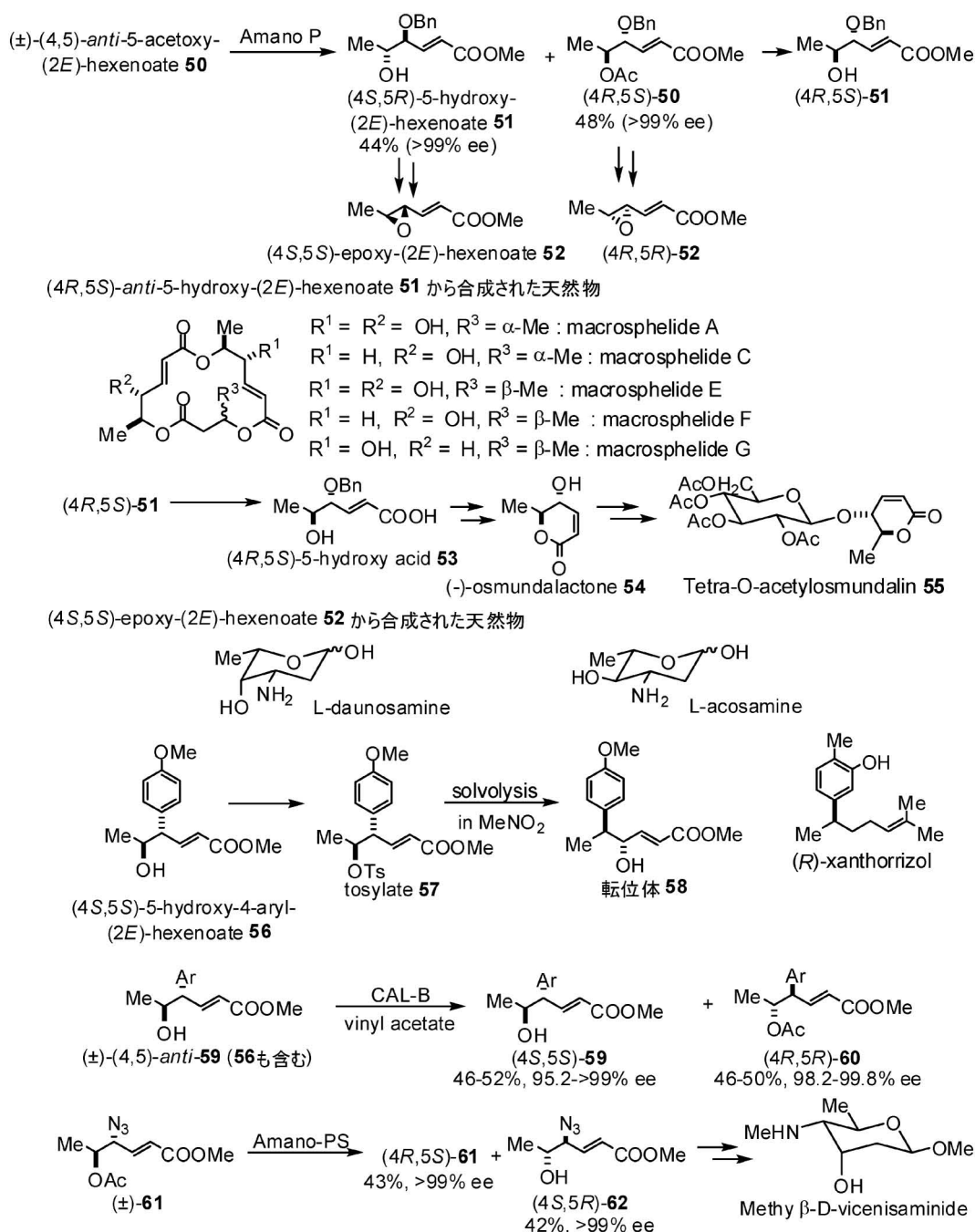


Fig. 11. Asymmetric Hydrolysis of (±)-(4,5)-*anti*-5-Acetoxy-(2*E*)-hexenoate **50** and Their Application to Natural Products

chloro butanoate **63** の lipase “Amano P” による不斉加水分解で(2*S*, 3*R*)-**63** (>99% ee) と(2*R*, 3*S*)-2-hydroxy-3-chloro butanoate **64** (>99% ee) を収率よく得ました (Fig. 12). 両者からはそれぞれエポキシエステルの両鏡像体 ((2*R*, 3*S*)-epoxy butanoate **65** と(2*S*, 3*R*)-**65**) が得られました.<sup>46)</sup> (2*R*, 3*S*)-**65** から第二世代の Grubbs 試薬を用いる RCM 反応を基盤にして抗菌, 抗腫瘍活性を示す(+)-

asperlin が合成できました.<sup>47)</sup> (2*R*, 3*S*)-**65** と 4-iodoindol との反応を基盤にして尿路感染症等対し抗菌活性を示す(-)-chuangxinmycin の合成も行いました.<sup>46)</sup> 次に(2*R*, 3*S*)-**65** のさらなる有効利用を目指して粘液細菌由来の抗生物質である cystothiazole 類, melithiazol 類の合成を検討しました. Cystothiazole 類, melithiazol 類は β-メトキシアクリレート構造と bithiazole 環を併せ持ち, 強い抗真菌

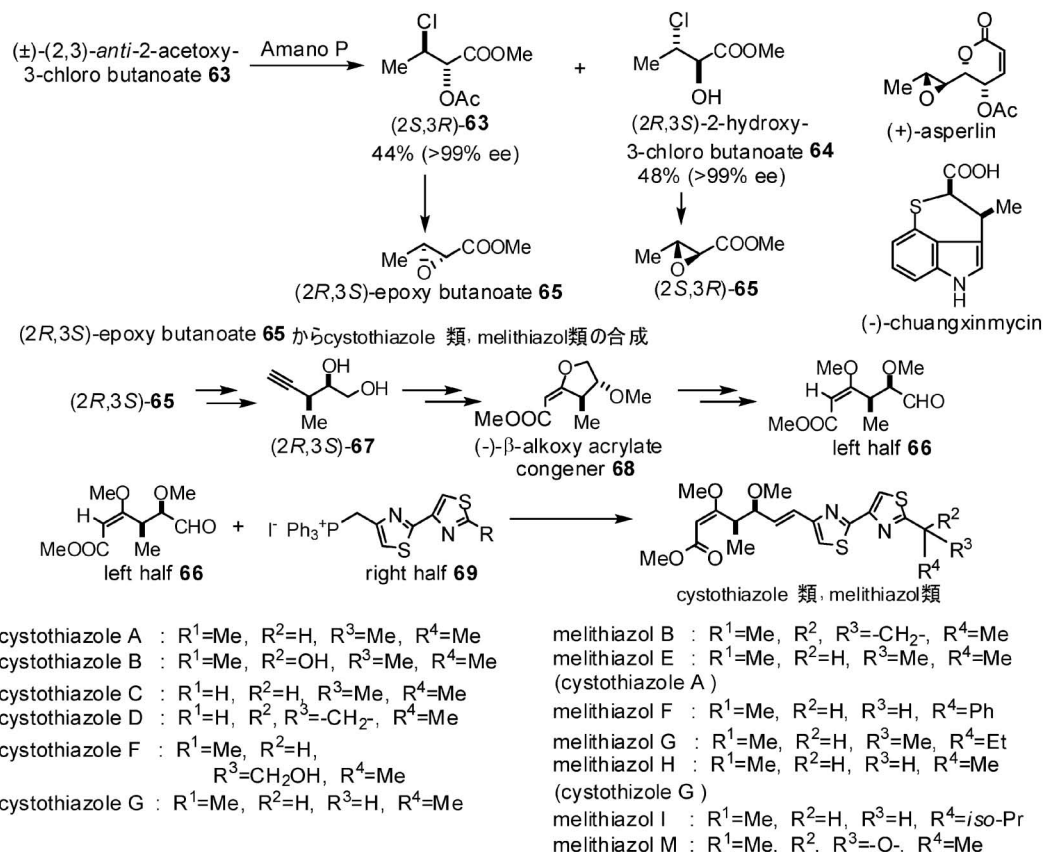


Fig. 12. Asymmetric Hydrolysis of (2,3)-*anti*-2-Acetoxy-3-chloro butanoate **63** with Lipase and Their Application to Natural Products

活性を示すことなどで注目された化合物であります。その左半分に相当するアルデヒド (left half **66**) を (2*R*, 3*S*)-**65** から合成しました。(2*R*, 3*S*)-**65** の 3 位にアセチレン部を導入後、還元で (2*R*, 3*S*)-**67** に導き、引き続き Pd (II)/CO/MeOH 条件下での環化-カルボニル化反応を鍵反応にして (-)-**68** を合成しました。別途に合成した右半分に相当する bithiazole 系ホスホニウム塩 (right half **69**) との Wittig 反応、又は bithiazole 系スルホンとの縮合反応により 6 種類の cystothiazole 系天然物 (A, B, C, D, F, G) と 7 種類の melithiazol 系天然物 (B, E, F, G, H, I, M) を合成しました。<sup>48-51)</sup> また、cystothiazole 系天然物 (B, F, G) と melithiazol 系天然物 (F, I) については不斉合成及び抗菌活性試験からその絶対構造も決定することができました (Fig. 12)。<sup>52-55)</sup>

**3-8. (-)-Indolmycin 及び Myxothiazol 類の全合成** ラセミの (2,3)-*syn*-2-hydroxy ester **70** の *Pseudomonas* sp. 由来の lipase “Amano PS” による不斉アセチル化を検討し、(2*R*, 3*S*)-**70** (50%,

94% ee) と (2*S*, 3*R*)-2-acetoxy ester **71** (48%, 95% ee) を得ました (Fig. 13)。<sup>56)</sup> (2*S*, 3*R*)-**71** から Pd 触媒下での *o*-iodoaniline 誘導体との Larock indole 合成反応を基盤として抗ピロリ菌活性を有する抗生物質 (-)-indolmycin **72** を合成しました。<sup>56)</sup> Myxothiazol A **73** と Z **74** はともに粘液細菌由来の抗生物質であり、 $\beta$ -メトキシアクリレート構造と bithiazole 環を併せ持ち、強い抗真菌活性を示すことなどで注目された化合物である。その左半分に相当するアルデヒド (left half **75a, b**) の合成にあたり、(2*R*, 3*S*)-**70** から  $\beta$ -メトキシアクリルアミド又は  $\beta$ -メトキシアクリルエステル構造を持つ左半分の合成(アルデヒド)については改良を加えました。すなわち、(2*R*, 3*S*)-**70** から脱シリル化後、acetylenecarboxylate 構造に換え、MeOH の選択的共役 *cis* 付加、続いて酸による異性化を経て *trans*- $\beta$ -methoxy acryl ester 又は *trans*- $\beta$ -methoxy acryl amide 構造を有する左半分を効率的に合成しました。<sup>57)</sup> 右半分の側鎖部に (S) の不斉中心を持つ bithiazole 系スルホンは一級水酸基の  $\beta$  位に不斉炭素を有するラセ

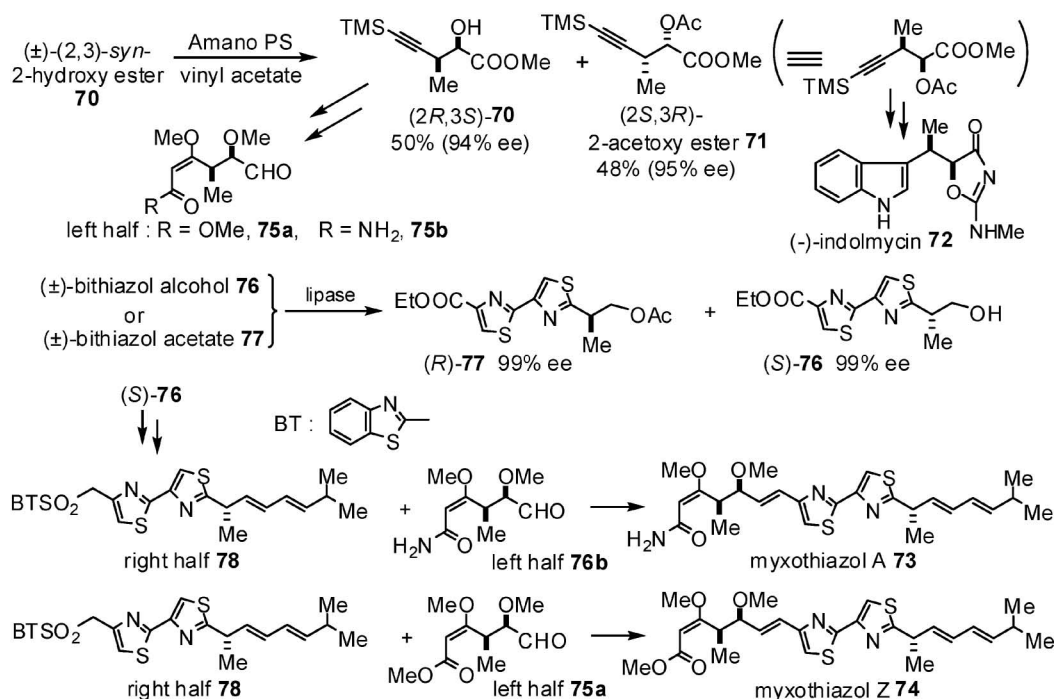


Fig. 13. Total Synthesis of Myxothiazols A 73, Z 74

ミの bithiazol alcohol 76 の不斉アシル化又は bithiazol acetate 77 の不斉加水分解によって得られた (S)-bithiazol alcohol 76<sup>58)</sup> からの増炭によって得られました。このようにして得られた右半分 (right half 78) と左半分 (left half 75a, b) との Julia-Kocienski 反応により myxothiazol A 73 の初めての 不斉合成と myxothiazol Z 74 の不斉合成を達成しました (Fig. 13).<sup>59,60)</sup>

**3-9. 光学活性な Piericidin 類の全合成** 次にミトコンドリア内の電子伝達系を阻害することにより特異な生理活性 (抗菌活性や腫瘍細胞に対する細胞毒性) を有する piericidin 類 79a, b の合成を検討しました。ラセミの 3-keto-2-methyl ester 80 を *n*-Bu<sub>4</sub>NBH<sub>4</sub> で還元し, *anti/syn*=10:1 の選択性で目的とする (2,3)-*anti*-3-hydroxy-2-methyl ester 81 を得, これをアセチル化して酵素反応の基質となるラセミの (2,3)-*anti*-3-acetoxy-2-methyl ester 82 を得ました。これについて lipase “Amano A-6” を用いて速度論支配下の光学分割を試みたところ, (2*S*, 3*S*)-82 (47%, 97% ee) と (2*R*, 3*R*)-81 (41%, 85% ee) が得られました。(2*S*, 3*S*)-82 から左半分に相当する 2 種のフェニルスルホン体 (right half 83a, b) を合成し, 別途に合成した右半分に相当するアルデヒド (left half 84) との Julia coupling により縮合

させて (-)-piericidin B<sub>1</sub> 79b と (+)-piericidin A<sub>1</sub> 79a の全合成を達成しました (Fig. 14).<sup>61)</sup>

#### 4. β-グルコシダーゼを用いる β-グルコシル系配糖体の合成

近年, 糖鎖が細胞表面での認識に関与していること等から糖鎖合成は注目を浴びています。従来の糖鎖合成では保護, 脱保護の過程で, グルコシル化反応時でのジアステレオ選択性を高める上で改善する必要がありますが, 酵素的 β-グルコシル化反応によりこの問題を一気に解決することができると考えました。天然に多く存在する β-グルコシド系配糖体の合成を目途として, アーモンド由来の β-グルコシダーゼを用いて *p*-nitrophenyl-β-glucopyranoside と一級アルコールとの速度論支配下の β-グルコシル化反応を検討し, 高選択的に β-体が得られることを見出しました (Fig. 15).<sup>62)</sup> 得られたグルコシル配糖体から生薬紅景天から単離された青酸配糖体 (rhodiocyanoside A, osmaronin, sutherlandin) を合成しました。<sup>62)</sup> 一方, 固定化 β-グルコシダーゼを用いる D-glucose と一級アルコールを大過剰に使用する平衡論支配下の β-グルコシル化反応では対応する β-グルコシル化合物が効率よく得られることが判明しました。<sup>63,64)</sup> 天然配糖体には側鎖部にシンナミルアルコール同族体を有する β-グル

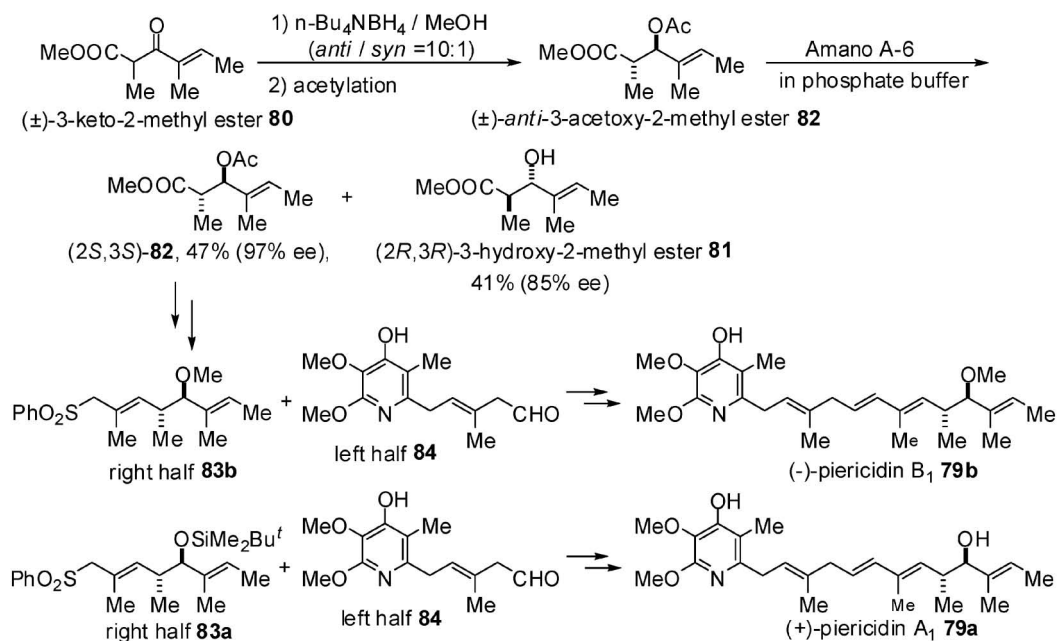
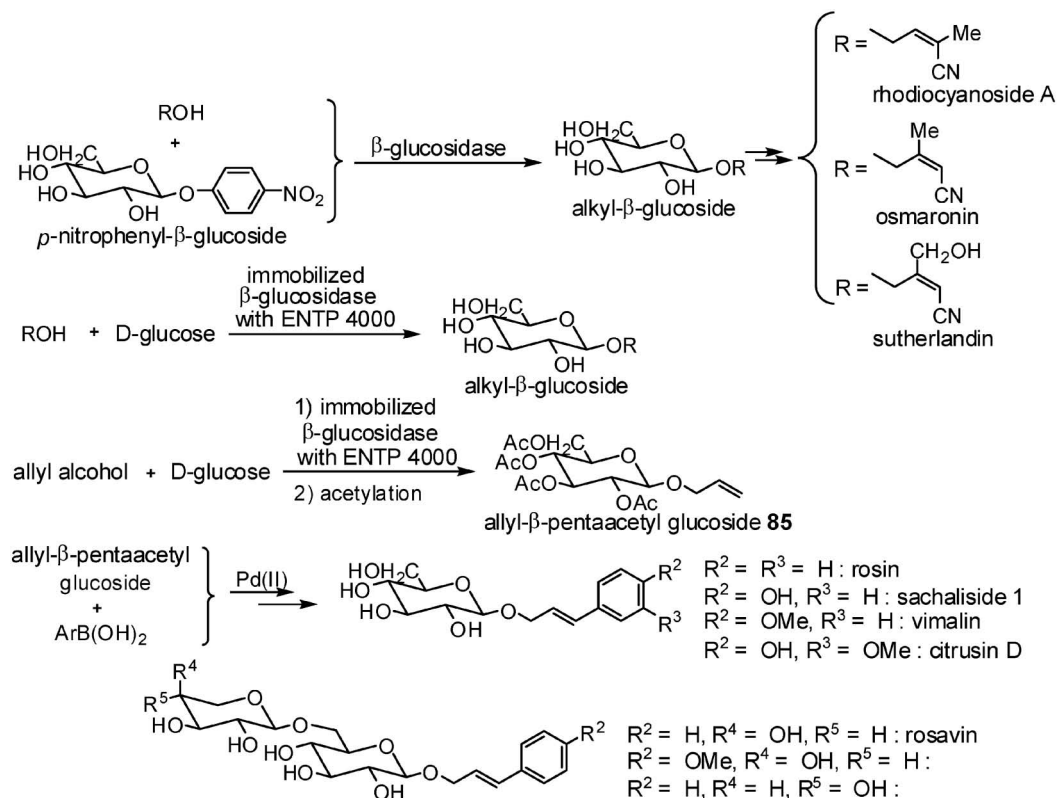
Fig. 14. Total Synthesis of (-)-Piericidin B<sub>1</sub> 79b and (+)-Piericidin A<sub>1</sub> 79a

Fig. 15. Enzymatic β-Glucosidation Using β-Glucosidase and Their Application to the Synthesis of Natural Products

コシル系配糖体が多く存在し、その中には薬理活性を示す化合物も多いです。構造活性相関研究の見地からも、これらの種々な誘導体を合成する必要があります。この問題は allyl alcohol と D-glucose との

平衡論支配下での β-グルコシル化反応で得られたアリール β-グルコシドのアセタート (allyl-β-pentaacetyl glucoside 85) に対するアリールホウ酸誘導体との Pd(II) 触媒を用いる Mizoroki-Heck 反応を

試みるにより解決され、天然物 (rosin, sachaliside 1, vimalin, citrusin D) を始めとする種々のシンナミルアルコール同族体の  $\beta$ -グルコシル系配糖体が合成されました。<sup>65,66)</sup> この手法はさらに2糖からなるシンナミルアルコール同族体の  $\beta$ -グルコシル系天然配糖体 (rosavin) の短工程合成にも応用されました (Fig. 15)。<sup>67)</sup>

### 5. おわりに

以上これまでなされた研究について概観いたしました。最近、触媒的不斉反応が著しい進展をしていますが、光学活性化化合物の合成について実用的な観点からみますと微生物や酵素の持つ多彩な機能も物質変換上重要な役割を担っていることを明らかにすることができたと思っています。理研に在職中既にこのことに着目し、精力的に研究を進めてきましたが、平成3年、東邦大学薬学部へ転出以来さらに大きく発展させ、酵素機能の高度利用を研究の中核として、かつ明確な合成戦略の下に有用な光学活性天然物を多数合成することができました。特筆すべきことは、光学活性中間体の実用的大量合成を目指し、補酵素を必要としない加水分解酵素 (リパーゼ)、また糖加水分解酵素 ( $\beta$ -グルコシダーゼ) を取り上げ、種類、反応条件、そして反応基質等適切に選択してそれらの酵素機能を見事に発揮させ、そして活用したことにあと思っています。さらに金属触媒との組み合わせにより光学活性でかつ重要な生理活性を有する多くの天然物を合成することができました。本研究に見い出された Pd(II)/CO/MeOH 条件下で環化-カルボニル化反応はさらに広く展開され、Phbox リガンドの存在下末端アセチレンに対し同条件下での反応で *trans*- $\beta$ -methoxyacrylate 構造を有する生成物が高収率で得られることが明らかになり、今後の発展が期待されることになりました。<sup>68)</sup> 限られた誌面の中で言及されなかった研究につきましてはご容赦願います。

**謝辞** 本稿で述べた研究成果は、尾能満智子博士 (現国際医療福祉大学薬学部教授)、南雲紳史博士 (現工学院大学工学部教授)、加藤恵介博士 (現東邦大学薬学部教授)、木下雅子博士、藤井幹雄博士を中心に、多くの大学院生、学部学生によってなされたものです。本研究費の一部は文部科学省研究費より助成を賜りました。厚くお礼申し上げます。

### REFERENCES

- Ohsawa T., Ohtsuka Y., Nakata T., Akita H., Shimagaki M., *Yuki Gosei Kagaku Kyokai Shi*, **34**, 920–933 (1976).
- Akita H., Oishi T., *Tetrahedron Lett.*, **19**, 3733–3736 (1978).
- Akita H., Tanis S. P., Adams M., Balogh-Nair V., Nakanishi K., *J. Am. Chem. Soc.*, **102**, 6370–6372 (1980).
- Horikoshi K., Furuichi A., Koshiji H., Akita H., Oishi T., *Agric. Biol. Chem.*, **47**, 435–436 (1983).
- Akita H., Furuichi A., Koshiji H., Horikoshi K., Oishi T., *Tetrahedron Lett.*, **23**, 4051–4054 (1982).
- Akita H., Koshiji H., Furuichi A., Horikoshi K., Oishi T., *Tetrahedron Lett.*, **24**, 2009–2010 (1983).
- Akita H., Matsukura H., Oishi T., *Tetrahedron Lett.*, **27**, 5241–5244 (1986).
- Akita H., Yamada H., Matsukura H., Nakata T., Oishi T., *Tetrahedron Lett.*, **29**, 6449–6452 (1988).
- Akita H., Yamada H., Matsukura H., Nakata T., Oishi T., *Tetrahedron Lett.*, **31**, 1731–1734 (1990).
- Akita H., Yamada H., Matsukura H., Nakata T., Oishi T., *Tetrahedron Lett.*, **31**, 1735–1738 (1990).
- Akita H., Enoki Y., Yamada H., Oishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **37**, 2876–2878 (1989).
- Akita H., Umezawa I., Matsukura H., Oishi T., *Chem. Pharm. Bull.*, **39**, 1632–1633 (1991).
- Ono M., Yamamoto Y., Todoriki R., Akita H., *Heterocycles*, **37**, 181–185 (1994).
- Ono M., Ogura Y., Hatogai K., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **6**, 1829–1832 (1995).
- Ono M., Suzuki K., Akita H., *Tetrahedron Lett.*, **40**, 8223–8226 (1999).
- Akita H., Nozawa M., Mitsuda A., Ohsawa H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **11**, 1375–1388 (2000).
- Fujii M., Ishii S., Saito R., Akita H., *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **59**, 254–260 (2009).
- Kinoshita M., Ohtsuka M., Nakamura D.,

- Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 930–934 (2002).
- 19) Miyake T., Uda K., Kinoshita M., Fujii M., Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **56**, 398–403 (2008).
- 20) Fujii M., Ishii S., Saito R., Akita H., *Tetrahedron*, **64**, 5147–5149 (2008).
- 21) Ishii S., Fujii M., Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **57**, 1103–1106 (2009).
- 22) Kinoshita M., Nakamura D., Fujiwara N., Akita H., *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **22**, 161–172 (2003).
- 23) Fujiwara N., Kinoshita M., Akita H., *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **40**, 64–72 (2006).
- 24) Fujiwara N., Kinoshita M., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **17**, 3037–3045 (2006).
- 25) Amano Y., Kinoshita M., Akita H., *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **32**, 141–148 (2005).
- 26) Akita H., Amano Y., Kato K., Kinoshita M., *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 725–732 (2004).
- 27) Arima Y., Kinoshita M., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **18**, 1701–1711 (2007).
- 28) Miyake T., Kigoshi H., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **18**, 2915–2922 (2007).
- 29) Kinoshita M., Miyake T., Arima Y., Oguma M., Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **56**, 118–123 (2008).
- 30) Akita H., Nozawa M., Shimizu H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **9**, 1789–1799 (1998).
- 31) Akita H., Chen C. Y., Kato K., *Tetrahedron*, **54**, 11011–11026 (1998).
- 32) Akita H., Kurashima K., Nozawa M., Yamamura S., Seri K., Imamura Y., *Tetrahedron: Asymmetry*, **9**, 4331–4340 (1998).
- 33) Namekata I., Yamaguchi Y., Moriguchi S., Yamazaki S., Terasawa A., Yamaguchi R., Aikawa T., Saito T., Kurashima K., Seri K., Imamura Y., Akita H., Shigenobu K., Tanaka H., *Eur. J. Pharmacol.*, **577**, 211–218 (2007).
- 34) Ono M., Saotome C., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **7**, 2595–2602 (1996).
- 35) Ono M., Nakamura H., Konno F., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **11**, 2753–2764 (2000).
- 36) Nakamura H., Ono M., Yamada T., Numata A., Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 303–306 (2002).
- 37) Nakamura H., Ono M., Makino M., Akita H., *Heterocycles*, **57**, 327–336 (2002).
- 38) Ono M., Nakamura H., Arakawa S., Honda N., Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **50**, 692–696 (2002).
- 39) Nakamura H., Ono M., Shida Y., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **13**, 705–713 (2002).
- 40) Ono M., Zhao X. Y., Shida Y., Akita H., *Tetrahedron*, **63**, 10140–10148 (2007).
- 41) Saotome C., Ono M., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **11**, 4137–4151 (2000).
- 42) Ono M., Ehara T., Yokoyama H., Ohtani N., Hoshino Y., Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **53**, 1259–1265 (2005).
- 43) Ehara T., Tanikawa S., Ono M., Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **55**, 1361–1364 (2007).
- 44) Fujii M., Yasuhara S., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **20**, 1286–1294 (2009).
- 45) Ehara T., Fujii M., Ono M., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **21**, 494–499 (2010).
- 46) Kato K., Ono M., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **8**, 2295–2298 (1997).
- 47) Akaike H., Horie H., Kato K., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **19**, 1100–1105 (2008).
- 48) Kato K., Sasaki T., Takayama H., Akita H., *Tetrahedron*, **59**, 2679–2685 (2003).
- 49) Sasaki T., Kato K., Akita H., *Chem. Pharm. Bull.*, **52**, 770–771 (2004).
- 50) Akita H., Sutou N., Sasaki T., Kato K., *Tetrahedron*, **62**, 11592–11598 (2006).
- 51) Takayama T., Kato K., Kimura M., Akita H., *Heterocycles*, **71**, 75–85 (2007).
- 52) Akita H., Sasaki T., Kato K., Suzuki Y., Kondo K., Sakagami Y., Ojika M., Fudou R., Yamanaka S., *Tetrahedron*, **60**, 4735–4738 (2004).
- 53) Akita H., Sasaki T., Takayama H., Kato K., *Heterocycles*, **66**, 219–228 (2005).
- 54) Takayama H., Kato K., Akita H., *Eur. J. Org. Chem.*, **2006**, 644–649 (2006).
- 55) Akita H., Iwaki Y., Kato K., Qi J., Ojika M., *Tetrahedron: Asymmetry*, **18**, 513–519 (2007).
- 56) Sutou N., Kato K., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **19**, 1833–1838 (2008).
- 57) Iwaki Y., Yamamura S., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **19**, 2192–2200 (2008).
- 58) Akita H., Nozawa M., Nagumo S., *Chem. Pharm. Bull.*, **42**, 1208–1212 (1994).
- 59) Iwaki Y., Kaneko M., Akita H., *Tetrahedron*

- Lett.*, **49**, 7024–7026 (2008).
- 60) Iwaki Y., Kaneko M., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **20**, 298–304 (2009).
- 61) Kikuchi R., Fujii M., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **20**, 1975–1983 (2009).
- 62) Akita H., Kurashima K., Nakamura T., Kato K., *Tetrahedron: Asymmetry*, **10**, 2429–2439 (1999).
- 63) Kurashima K., Fujii M., Ida Y., Akita H., *J. Mol. Catal. B: Enzym.*, **26**, 87–98 (2003).
- 64) Akita H., Kawahara E., Kato K., *Tetrahedron: Asymmetry*, **15**, 1623–1629 (2004).
- 65) Kishida M., Akita H., *Tetrahedron Lett.*, **46**, 4123–4125 (2005).
- 66) Kishida M., Akita H., *Tetrahedron*, **61**, 10559–10568 (2005).
- 67) Kishida M., Akita H., *Tetrahedron: Asymmetry*, **16**, 2625–2630 (2005).
- 68) Kato K., Motodate S., Mochida T., Kobayashi T., Akita H., *Angew. Chem. Int. Ed.*, **48**, 3326–3328 (2009).