



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	ピロリジノインドリンの触媒的二量化法の開発と天然物立体化学の系統的改変
Author(s)	和田, 光弘
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(理学)
Dissertation Number	甲第11476号
Issue Date	2014-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k11476
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58194
Type	doctoral thesis
File Information	Mitsuhiro_Wada.pdf



博士論文

ピロリジノインドリンの触媒的二量化法の開発と
天然物立体化学の系統的改変

有機反応論研究室 和田 光弘

1 章 序論

1. ケミカルバイオロジーと創薬
2. 生理活性低分子創出を目指した合成研究
3. 骨格多様化合成
4. 研究計画
5. 過去の WIN 64821 の構造活性相関研究
6. 本研究の目的
7. 合成計画

2 章 ピロリジノインドリンの触媒的二量化法の開発

1. 二量体型天然物
2. 遷移金属を用いた二量化反応
3. ビスピロリジノインドリン骨格を有する天然物 WIN 64821
4. 二量化前駆体の合成
5. 二量化反応の探索
6. 二量化反応条件の最適化
7. 基質適用範囲の検討
8. 反応機構推察に関する実験
9. 天然物 folicanthine と chimonanthine の全合成
10. WIN 64821 の全合成
11. 結論

3 章 立体化学を指標とした構造活性相関

1. WIN 64821 アナログの系統的合成
2. HCT116 細胞の In vitro アッセイ
3. WIN 64821 とその立体異性体の構造活性相関
4. ヒット化合物 MTOH53 の置換基改変による構造活性相関
5. 結論

4 章 結論

5 章 Experimental

1. General procedure
2. HCT116 細胞の In vitro アッセイ
3. WIN 64821 とその立体異性体の構造活性相関
4. ヒット化合物 MTOH53 の置換基改変による構造活性相関

1-1 ケミカルバイオロジーと創薬

ケミカルバイオロジー（化学生物学）とは「(有機)化合物をツールとして生命現象を解き明かす学問」と説明される。ハーバード大学の Stuart L. Schreiber らが提唱し、今や世界中で活発に研究が繰り広げられる一大学問領域である。冒頭の一文をもう少し詳細に説明すると、生理活性有機低分子を利用して、核酸やタンパク質などの生体分子の機能を分子レベルで【説明】する学問であると言える。類似した名前の学問にバイオケミストリー（生化学）があるが、こちらは生体機能について化学用語で【説明】する学問である点に違いがある。有機合成化学が特に強く関連するケミカルバイオロジーの領域としては、1) 分子プローブ創製による生体高分子の機能追跡と可視化、2) 有機低分子を用いた生体高分子の機能変調と制御による機能の解明、3) 有機低分子の標的生体分子の探索、4) 化合物ライブラリーのデザインと構築、5) 生合成経路の解明とそれを応用した生理活性分子創製などが挙げられる。これら代表例から見て取れるように、ケミカルバイオロジーと創薬は密接に関連した研究領域である。

低分子化合物を用いた生体機能の変調・制御を目指した研究における第一関門は高活性な低分子化合物を得られるか否かである。現在はハイスループットスクリーニング等に代表される分析手法のオートメーション化により評価系の高速化が達成されている。したがって、新規活性低分子探索では有用な化合物を数多く含んだ、または含む可能性の高い化合物ライブラリーをいかにして構築し、拡充するかがより一層重要な課題となっている。

天然物とは、動物、植物、微生物や酵母など自然界の生物が産生している化合物群の総称であり、種の存続のために機能と構造が最適化されてきたという考えが受け入れられている。これらの多くは三次元的な母骨格から種々の官能基が配向性を持って提示されており、その結果として、生体高分子と特異的かつ強力に相互作用できるものが多い。2013 年時点でも薬剤分子とそのリード化合物に占める天然物群の割合は未だ大きなものである¹。したがって、天然物群は化合物ライブラリーの構成要素として最も信頼のおける一群である。

ある化合物の有用性が明らかになると、化合物の構造最適化が行われる。創薬の場合ではファルマコフォアの同定、活性の向上、動態の改善、低コスト合成法の開発を目的として、標的生体高分子の探索ではプローブ化のための構造改変部位の決定のため、類似した化合物群の系統的アッセイによる構造活性相関研究が付随する。構造活性相関に必要な化合物群の供給法は、有機合成的手法と生合成経路を利用した方法に大別される。有機合成では生合成基質にとらわれず官能基の導入・除去・置換が容易な点に最大の利点がある。特定の機能の最適化という点では Wender らが提唱する Function Oriented Synthesis (FOS) という考え方がある。bryostatin などの高活性だが数十工程にも及ぶ多段階合成が必要な複雑な構造を有する化合物をターゲットとして、分子構造を単純化・最適化しながら生理活性の向上を目指すアプローチである²。また、非天然型分子の合成に活路を見い

出した例では、後述する多様性指向型合成 (DOS) と生物指向型合成 (BIOS) が有効な戦略として研究されている。一方、生合成経路を利用した方法では化学酵素的手法と遺伝子工学的手法が挙げられる。化学酵素的手法では置換基を導入または除去した基質誘導体を生産菌に投与することで天然物アナログを合成する。単純な基質を取り込ませるだけで複雑な化合物を組み上げる点に利点があるが、酵素の基質特異性に由来する収率の低下が課題となることが多い。遺伝子工学的手法では、標的となる官能基の導入に関わる酵素遺伝子を改変することで官能基導入を制御する。化合物の母骨格はそのままに望みの位置の官能基導入を制御できる点に利点はあるが、例えば酸化酵素 P450 が遺伝子クラスター内に複数存在する場合には遺伝子と置換基導入部位の対応を明らかにする必要があるなど難点もある。しかしながら、複雑な天然物とそのアナログを効率的に供給しようとする場合、有機合成的手法よりも発酵生産や生合成遺伝子の異種株発現などのアプローチが優位であるという論調が比較的強い傾向があるように感じられる。

天然物は化合物ライブラリーの構成要素として大変優れた一群であるが、量的供給に問題を抱えていることが多い。抽出すると生産植物が死滅してしまうもの、生産菌が絶滅してしまったもの、生産・培養条件が確立していないもの、真の生産種が不明で数 mg の化合物を抽出するためにそのホストとなる生物を kg オーダーで採取しなければいけないもの等が数多く知られている。そして、微量成分であるもの場合は、その生理活性評価自体が満足に行うことができない点にも問題がある。したがって、ライブラリーの構築では、合成・供給の容易性も重要なファクターとなる。

1-2 生理活性低分子創出を目指した合成戦略

前節では、天然物群の有用性と共にその活性評価と供給への課題を述べた。これを受け、合成の容易性と生理活性低分子が見出される確率の高さを兼ね備えた化合物ライブラリーの重要性が強く認識され、その構築法が開発されてきた。

2000 年代前半、製薬会社を中心にコンビナトリアル化学的手法が流行した。この手法は、芳香族ユニットをクロスカップリングにより順次連結することで、網羅的に化合物群を合成する手法である。機械によるオートメーション化などライブラリーの拡張性や合成コストの面では優れた方法であったが、分子の三次元構造の観点から見ると置換基・官能基のバリエーション以外はほとんど類似した分子しか得られず、分子数に比例したヒット化合物の発見には至らなかった。Figure 1 には天然物群（青）、医薬品（緑）、コンビナトリアル合成により得られた化合物群（赤）のそれぞれが占めるケミカルスペースの比較画像を示したが³、この図から芳香族ユニットの連結に依存したライブラリーデザインは構造が限定されていることが見て取れる。

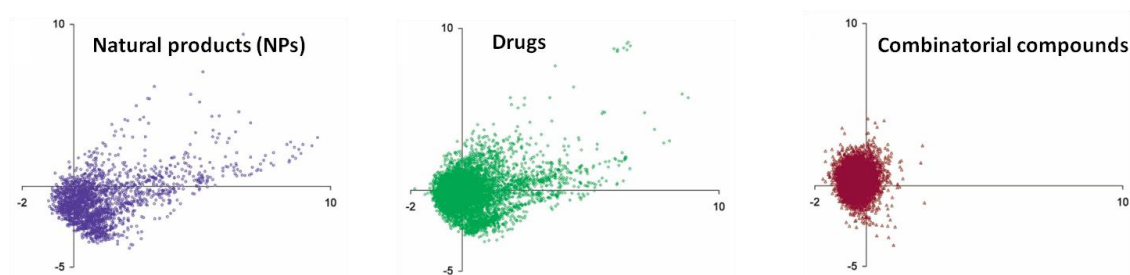


Figure 1 化合物群の占めるケミカルスペースの比較

Schreiber は多様性指向型合成 (Diversity Oriented Synthesis: DOS) を提唱・開拓した。⁴コンビナトリアル化学的手法が官能基・置換基のバリエーション創出であったのに対し、この手法は三次元骨格のバリエーション創出である点に大きな違いがある。Build/Couple/Pair (B/C/P) 戦略は、骨格の多様性を創出する DOS の基本的なアプローチである。第一段階である Build で、立体選択的にキラルなビルディングブロックを構築して、第二段階である Couple で分子「間」反応によりビルディングブロックを連結し、第三段階の Pair で分子「内」反応によって多様な縮環骨格を構築する。Pair における Polar-polar はカルボン酸とアミンのアミド結合形成に代表される極性官能基同士のカップリング、nonpolar-nonpolar はオレフィンメタセシスに代表される非極性官能基の連結、polar-nonpolar は非極性官能基を試薬の添加で活性化してから極性官能基の攻撃により環化をさせる方法である。

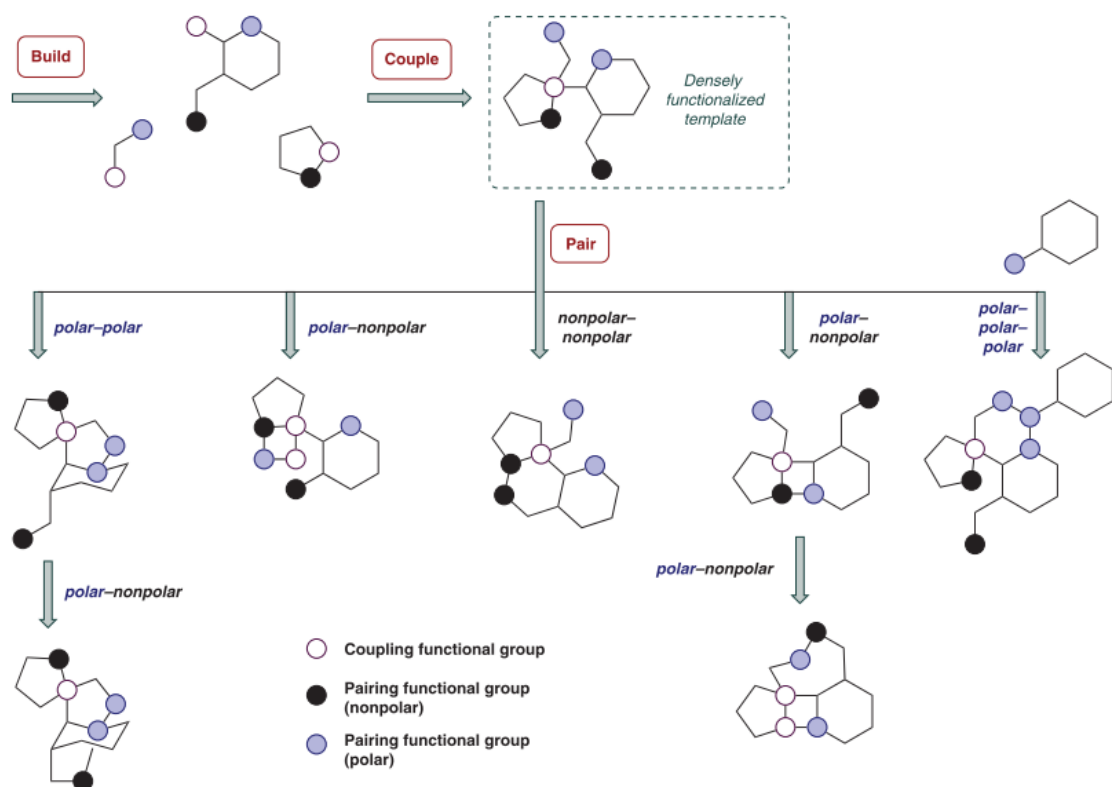


Figure 2 Build/Couple/Pair (B/C/P) 戦略の概要

構造多様化の戦略としては 2 通りの方法がある。1 つは共通の原料に異なる反応条件を適用することで様々な分子を得る方法、2 つ目は異なる原料に対し共通の反応条件を適用することで様々な分子を得る方法である。両者の概念図を Figure 3 に示した。

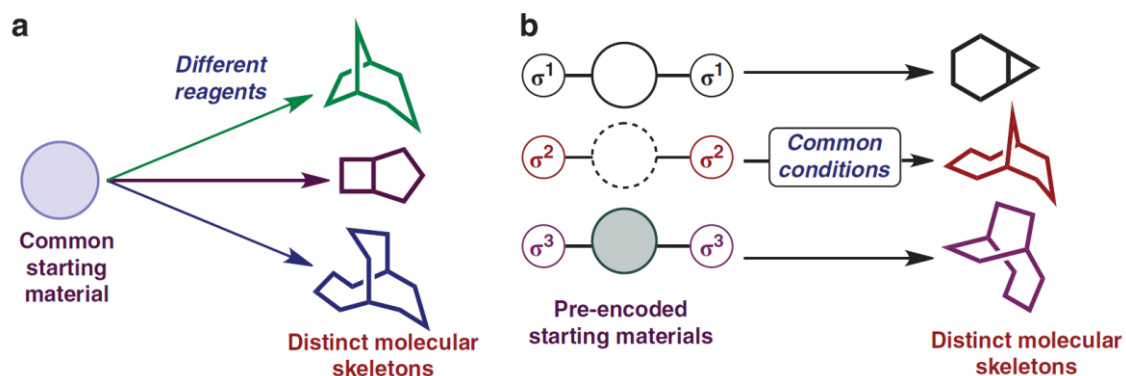
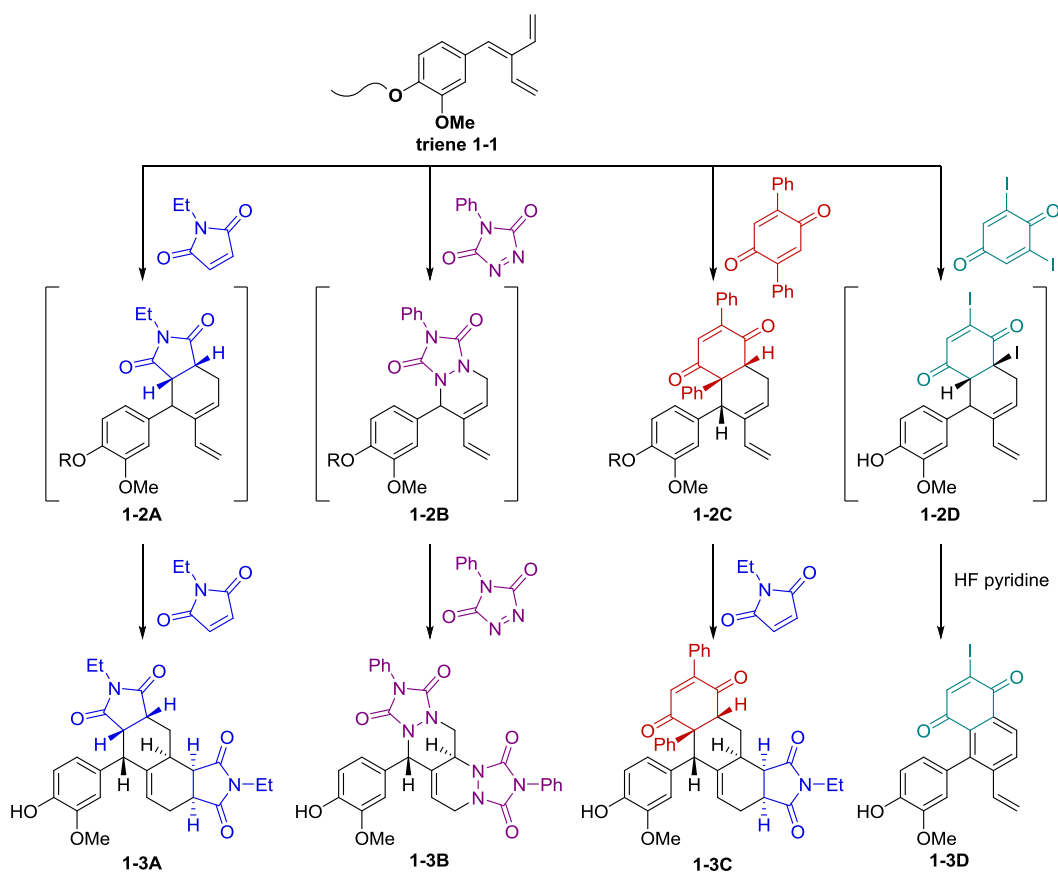


Figure 3 二種類の多様化戦略に関する概念図

a は付加するビルディングブロックの違いにより骨格の多様性を創出した例である。Kwon らはトリエン **1-1** を出発原料とし、異なる反応性のジエノフィルとの Diels-Alder 反応によって **1-3A**~**1-3D** の 4 種類の骨格にアクセスした⁵。マレイミドと 4-フェニル-*3H*-1,2,4-ト

リアゾール-3,5(4*H*)-ジオン (PTAD) 化合物は二分子が連結し、それぞれ中間体 **1-2A**、**1-2B** を経由して 5,6,6,5 員環の化合物 **1-3A**、**1-3B** を与えた。一方、ベンゾキノンは 1 分子しか Diels-Alder 反応が起こらず **1-2C**、**1-2D** を与える。ただし、**1-2C** に反応性の高いマレイミドの付加は可能であり 6,6,6,5 員環を有する四環性骨格 **1-3C** へと変換することができることを示した。**1-2D** はリンカーからの切り出すための HF・pyridine 処理の際に脱ハロゲン化が起こり、切り出し後は芳香環化した **1-3D** が生成物となる知見を得ている。出発原料 **1-1** の前駆体であるアルデヒドと連結するジエノフィルの組み合わせを変えることで、異なる 10 系統の縮環骨格で構成される合計 29400 種の化合物ライブラリーの創製に成功している。

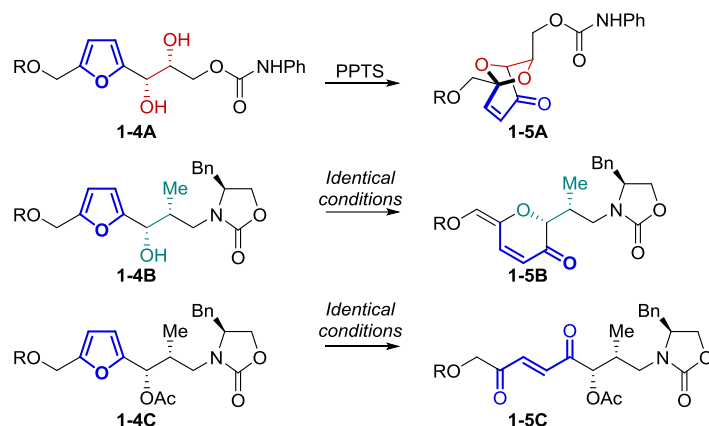
Scheme 1 ビルディングブロックの改変による骨格の多様性創出



概念図 b は環化前駆体の構造を改変することで生成物の環構造を改変する戦略であり、代表例として Burke らの報告したフランを活用した多様性指向型合成を紹介する。⁶骨格の分岐に関与する σ element (シグマエレメント) を予め基質に導入しておき、共通の反応条件で処理する。今回の例では弱酸 PPTS を用いた条件でフラン環が開裂してエンジオン中間体になる反応を利用している。エンジオンが生成すると、分子内にフリーのヒドロキシル基がある場合は末端側のカルボニル基に求核攻撃が起きる。一番上の化合物では 2 つのヒ

ドロキシシル基があるので、2 度の求核攻撃が起きて渡環結合を有する縮環骨格が得られた。中段の化合物では 1 度の求核攻撃とそれに続く脱水により六員環が、下段の化合物では求核攻撃は起こらず開環したままのエンジオンがそれぞれ生成した。著者らはこのビルディングブロックと σ element の組み合わせにより、1200 種類以上の化合物群の創製を実現した。

Scheme 2 基質の構造特性を利用した構造多様化



多様性指向型合成の有用性を示す例として、Stanton らによる Hedgehog 経路を阻害する合成化合物 robotnikinin の発見が挙げられる。⁷彼らは、天然物を含む約 10000 分子の DOS ライブラリーの化合物群をガラス表面に共有結合させた低分子マイクロアレイを作成し、標的タンパク質と相互作用する低分子を探索した。ソニックヘッジホッグ (Shh) タンパクと結合するマクロ環化合物 **1-6** を見出し、構造活性相関によってさらに強力なアフィニティを有する合成低分子の robotnikinin (**1-7**) を発見した。**1-7** を用いた種々のアッセイにより 1) **1-7** はソニックヘッジホッグタンパクに結合することで濃度依存的に Shh 経路の阻害作用を示すこと、2) その経路の下流にある経路を活性化できる化合物で処理することにより阻害がキャンセルされることなど、シグナル伝達経路に関する知見を得ることに成功している。

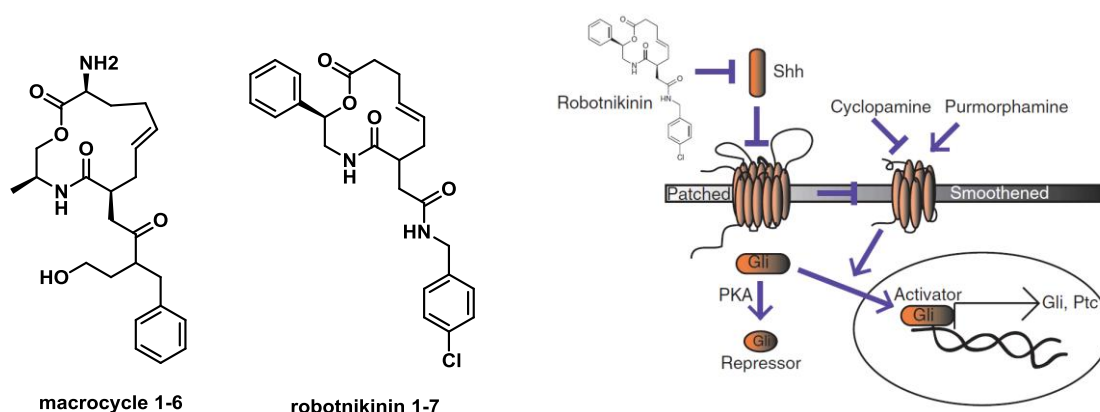


Figure 4 Shh タンパクに相互作用するマクロ環化合物とそのシグナル阻害作用

Waldmann は Biology Oriented Synthesis (BIOS) を提唱した。⁸ 生理活性低分子探索のライブラリー構築を指向した戦略である点は DOS と同様であるが、ライブラリーの構成要素が天然物を模倣した構造の化合物群である点に違いがある。BIOS では生理活性天然物に数多く見出される共通構造を抽出し、そこに様々な置換基を導入することで多様性を創出する戦略である。いわば天然物の基本骨格を基盤とするコンビナトリアルライブラリー構築である。例えばインドールを母骨格とする天然物 yohimbine、ajmalicine、reserpine 型の化合物群は 5 環性の母骨格を有している。この一群からの構造抽出は、共通の母骨格の中で最も多環性のものを選択する。構造の簡略化では、ヘテロ原子を残しながら残った骨格の環開裂は行わないという規則に従い、1 つずつ環を減らしたものをデザインしていく。今回の例では末端側から環を減らしていくこととなる。

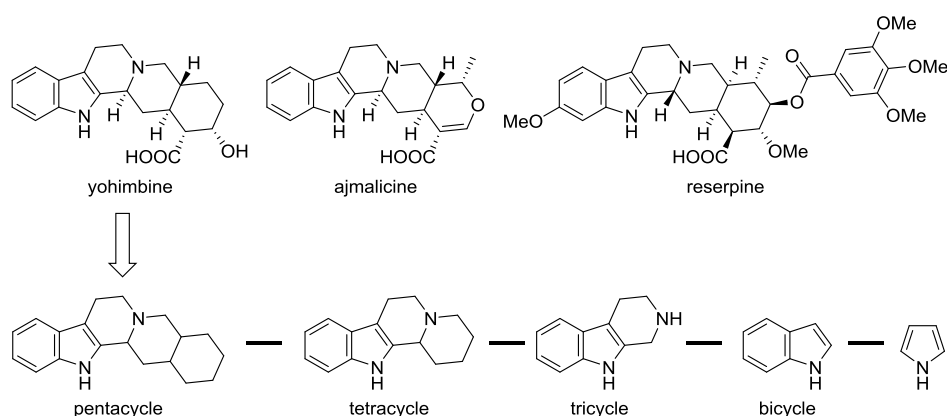
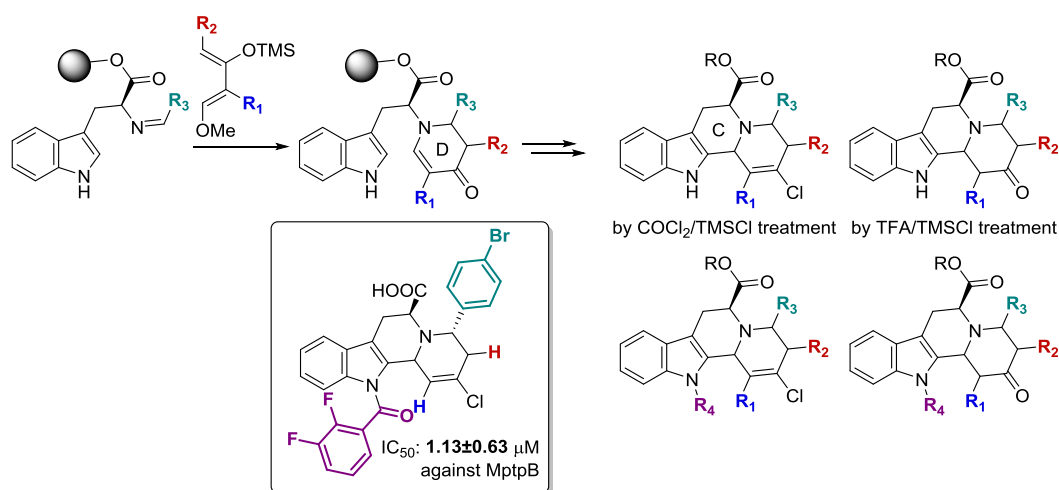


Figure 5 共通構造の抽出と母骨格の構造簡略化プロセス

Corrêa Jr. らは yohimbine 型母骨格を簡略化した 4 環性骨格の化合物群について BIOS 化合物ライブラリーを構築し、リン酸化酵素阻害剤のリード化合物を見出した⁹。次の様にしてライブラリーを構築した。まず、固相担持したトリプトファンに置換基を連結したアルデヒドを作用させ、イミンを形成させる。続いて種々の置換基を連結したシロキサジェ

ンをビニロガス Mannich-Michael 型の反応で D 環を構築する。最後の C 環形成では、ホスゲンで処理すると D 環に塩素を有する化合物群が、酸性条件で処理すると D 環にカルボニルを残した化合物群がそれぞれ得られる。700 種を超える化合物ライブラリーの構築により、置換基に基づく構造活性相関からヒット化合物に必要な置換基要素の特定に成功している。



本節では、生理活性低分子創出を指向した化合物ライブラリーの構築法を概説した。DOS と BIOS は多様性と複雑性を兼ね備えた分子群の供給という要請に対し発展したもので、天然物の合成とは一線を画していることを強調しておく。立体化学の面からは、これらの手法はジアステレオマーが生成する反応が多いため多様な化合物が得られる利点がある。しかし、ある特定の立体化学を有する化合物を選択的に合成したい場合に、ジアステレオ選択的な合成方法が必ずしも立案できるとは限らない。我々はこの点に対し、立体化学を制御しながら改変を行う経路を立案することで、ヒットが生まれた際に「作りたいものだけ選択的に作る」ことができるプロセスの開発を目指している。詳細は次節で述べる。

1-3 骨格多様化合成

生物は進化の過程で多様な生理活性天然物を生合成する術を身につけてきたが、ヒトの疾病に対する薬を最適化してきたわけではない。その点を踏まえて我々は、生理活性発現に必要な官能基が揃った天然物の構造をさらに多様化した化合物群を実現可能なコストで自在に合成できれば、医薬品リード化合物や分子プローブの探索効率が劇的に高まるのではないかという仮説を立て、骨格多様化合成を提唱している。我々

の提唱する骨格多様化合成は、これまであまり注目されていなかった非天然型の骨格を有する天然物の立体異性体や、生合成では得られない新規骨格の化合物群への系統的なアクセスによる構造多様化を目指している点に既存のアプローチとの大きな違いがある。

当研究グループでは、天然物類似低分子群の生理活性についても研究している。近年注力している構造モチーフは、1) artemisinin や transtaganolide に代表される高酸化型セスキテルペンラクトン群¹⁰、2) ニチニチソウが生産するインドールアルカロイド群¹¹、3) アズレン骨格をベースとした多環性骨格を有する化合物群¹²、4) ビスピロリジノインドリン骨格を有する化合物群、の4つに大別される。

我々はこれらの構造モチーフの多様化をめざし 2 通りのアプローチで研究に取り組んでいる。1 つ目のアプローチは、生合成中間体を模倣した「多機能性中間体」を起点とする分岐型プロセスで多様な骨格群にアクセスするものである。その代表例としては、当研究室の溝口が報告したジヒドロピリジン (DHP) 中間体を經由した 5 系統の骨格の異なるアルカロイド群の迅速合成が挙げられる。¹³

トリプタミンより誘導したエンイン中間体 **1-9** を独自に見い出した銅触媒反応条件にふすことにより *in situ* で DHP 環を形成した。DHP 中間体をワンポットで 60 °C に加熱すると DHP をジエンとする [4+2] 型環化が進行して iboga 型骨格の化合物 **1-11** が得られた。DHP の一方の二重結合を還元してからヒドロキノンと共に 180 °C に加熱すると DHP 由来の二重結合をジエノフィルとした [4+2] 型環化が進行して aspidosperma 型骨格 **1-12** を有する化合物へと変換できた。また、DHP に連結したメチルケトン を TIPSOTf で活性化することでエノレートを生じさせて新たなジエンを形成すると、このジエンと不飽和エステル の二重結合をジエノフィルとする [4+2] 型環化が進行して andraginine 型の骨格を有する化合物 **1-13** へと変換できた。これら 3 種の化合物群はそれぞれ数工程の変換を経て天然物 catharanthine、vincadifformine、andranginine へと誘導された。また、iboga 型骨格を与える DHP 中間体を 120 °C に加熱して ngounienseine 型化合物 **1-15** へ、同中間体を Ru

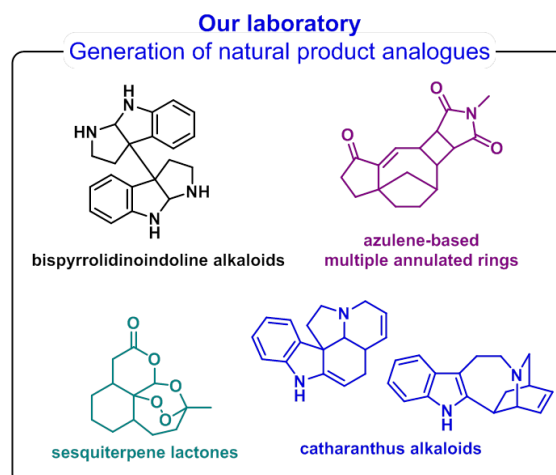
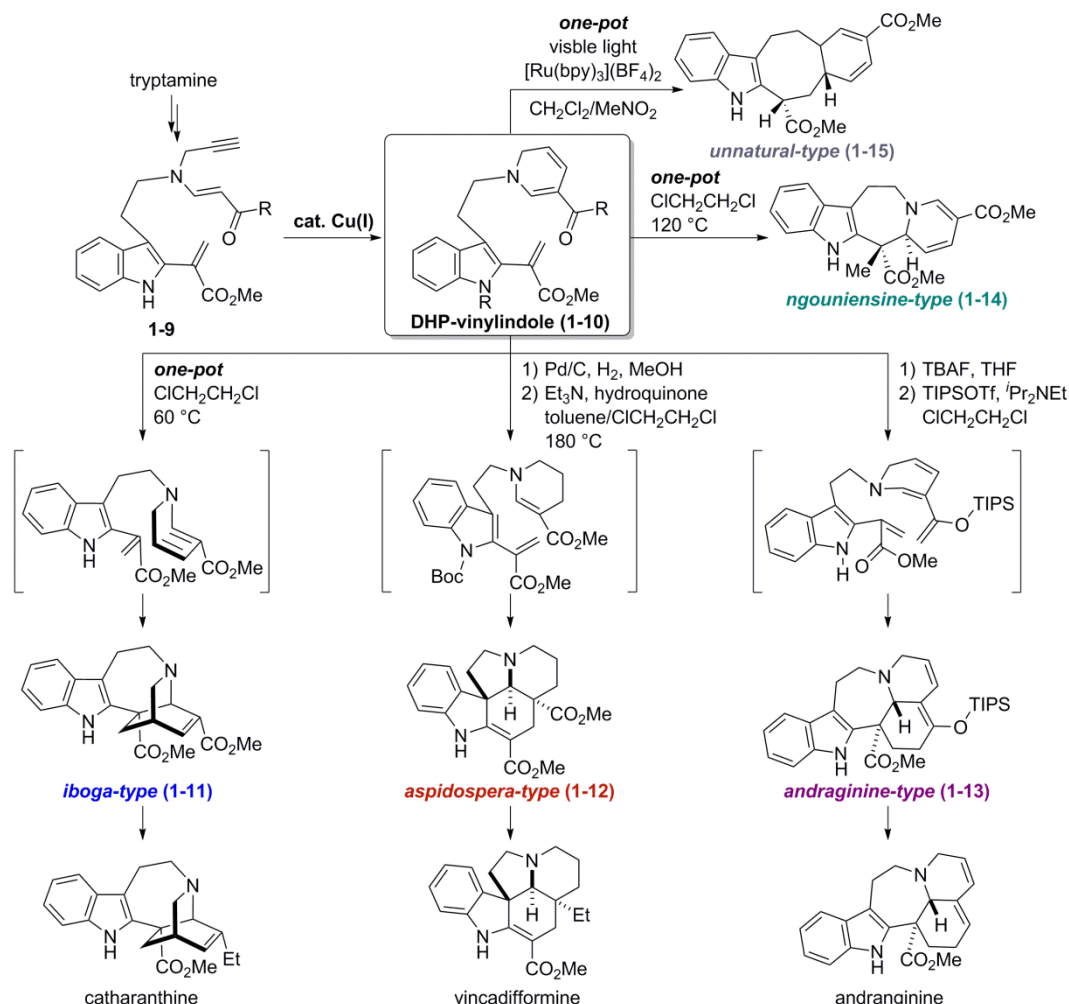


Figure 6 注力している構造モチーフ

からなるフォトレドックス触媒で処理して非天然型骨格の化合物 **1-15** へも変換できることを示した。

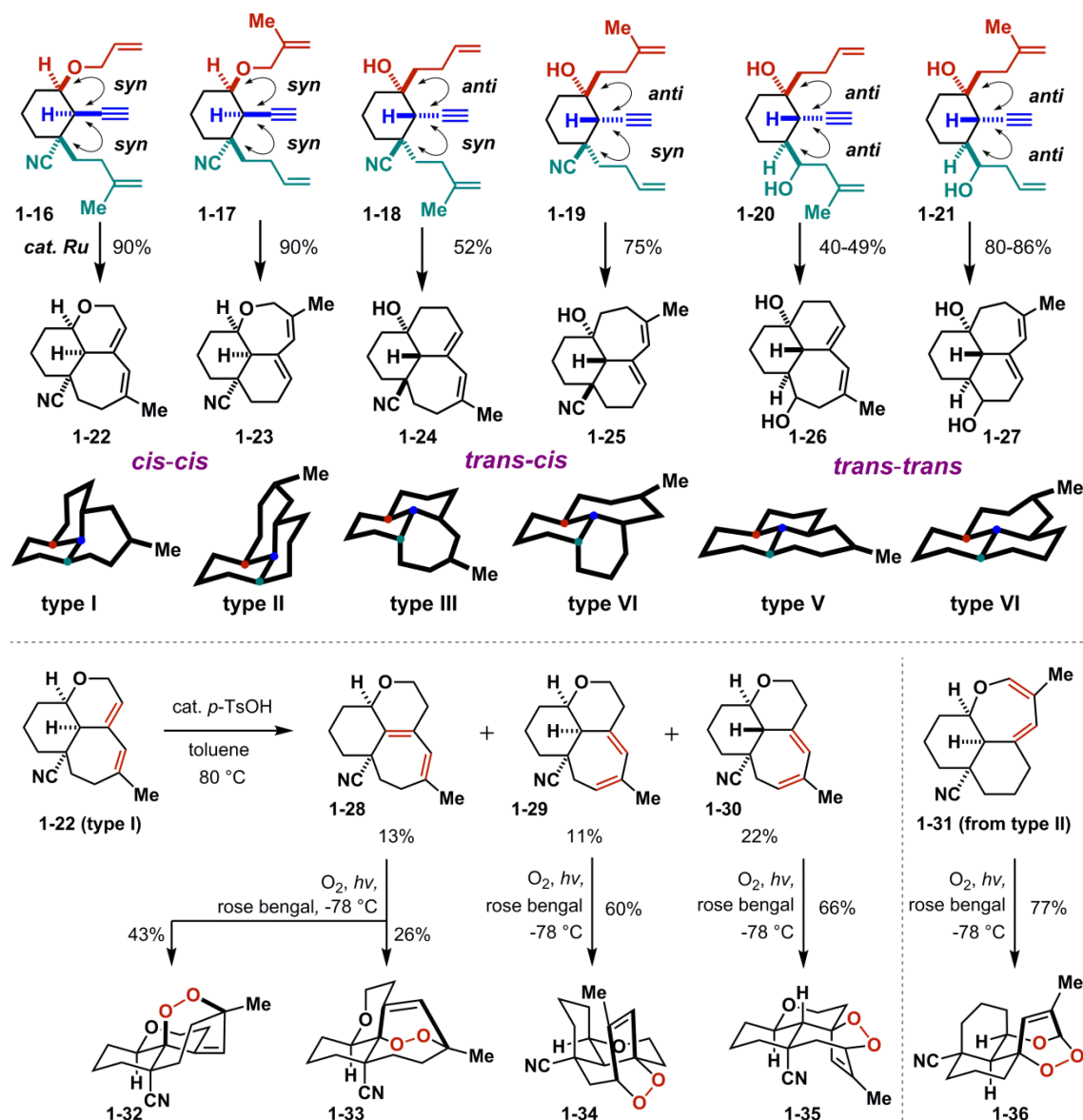
Scheme 3 分岐型プロセスによる 5 系統の骨格の合成



2 つ目のアプローチは、モチーフとする天然物の縮環構造について、その立体化学を系統的に改変するアプローチである。その代表例として、当研究室の比留間、山岸が報告した抗酸化型セスキテルペンアナログの三次元構造多様化研究が挙げられる。マラリアやアフリカ睡眠病（トリパノソーマ症）に代表される熱帯感染症の治療薬として有効な天然物である高酸化型セスキテルペンラクトン **artemisinin** と **transtaganolide** は、6,6,7 縮環からなる 3 環性縮環骨格を母骨格としている。この共通点に着目し、3 環性骨格の立体化学を系統的に改変することで天然物の構造を簡略化したアナログ群を創製した。具体的には、3-ニトリル-2-シクロヘキセン-1-オンへのアルキル基導入の立体化学を制御することで *syn-syn* 型、*anti-syn* 型、*anti-anti* 型のジエンイン中間体を系統的に合成し、閉環メタセシスにより 6

系統の3環性骨格を合成した。3環性骨格の抗トリパノソーマ活性をスクリーニングして最も活性に優れたタイプIとIIの母骨格を選定し、オレフィンを異性化と一重項酸素の付加によりペルオキシドを導入した天然物アナログ群を合成した。含ペルオキシド化合物群の抗トリパノソーマ活性を評価した結果、タイプIから合成した artemisinin と全く同じ縮環構造を有するアナログ **1-33** を XXX に匹敵する・凌ぐ? 活性を有するリード化合物として見出すことができた。

Scheme 4 セスキテルペンラクトンアナログ群の立体化学多様化



1-4 研究計画

前章では骨格多様化合成は二つのアプローチがあることを述べた。第一の例は結合形成部位の改変による骨格の多様化であり、第二の例は生理活性天然物の構造モチーフの系統的な立体化学の改変であった。本研究は2つ目のアプローチの発展的な立ち位置に属しており、「モチーフとする天然物の構造を簡略化することなく」、合成後期で縮環部立体化学を改変する戦略で「天然物と同一分子量で立体化学が異なる」化合物群を系統的に創製するものである。天然物の立体化学を改変する点に焦点を絞り、得られた異性体

(**stereochemical variants**) のセットを用いて様々な生理活性を評価することで立体化学を指標とする構造活性相関研究を行う。活性発現に必要なファーマコフォアの三次元構造要因の推察と化合物の一次スクリーニングが一举に可能な本アプローチが、生理活性低分子の探索とデザインのアプローチとして有用なことを示すことを目標にしている。

研究遂行に当たり、生理活性アルカロイドの特徴的な構造モチーフであるビスピロリジノインドリン骨格を有する天然物 **WIN 64821** をモチーフとすることにした。その理由は、2分子の単量体を触媒的に連結する反応条件が未だ報告されていないこと、縮環部立体化学の改変により分子の三次元構造の劇的な変化が期待されたこと、の2点である。**Figure 7** に *ent*-**WIN 64821** と立体異性体の化学構造、配座探索プログラム **MacroModel** を用いて計算したそれぞれの最安定配座を示した。カルボニル基の付け根とアミノ酸の立体化学を改変するだけで三次元構造が大きく変化していることが見て取れることから、立体化学を指標とした構造活性相関研究に適した化合物群だと考えられる。

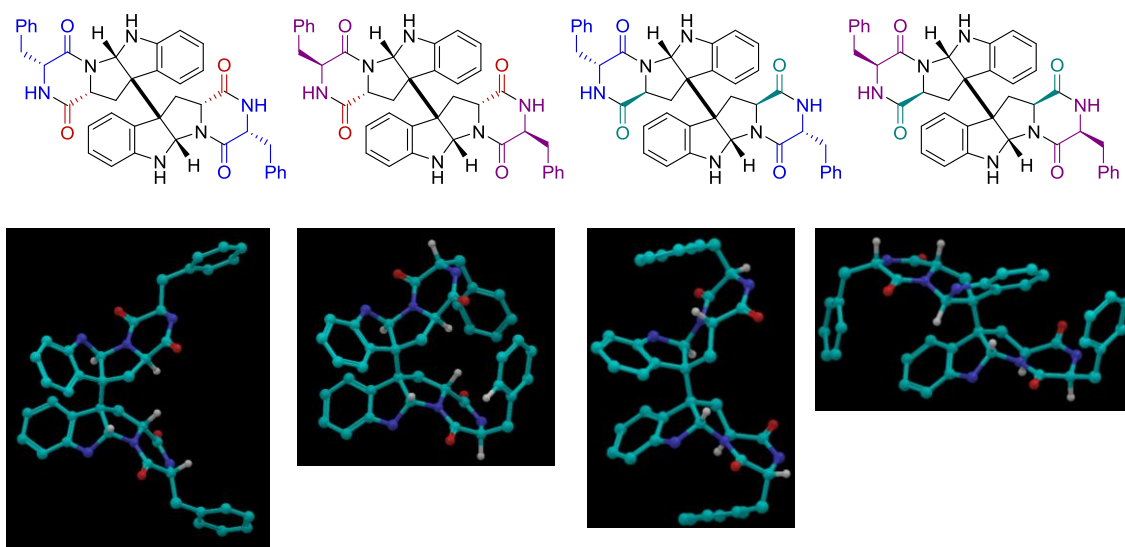


Figure 7 **WIN 64821** の立体異性体群における最安定配座の計算結果

本研究では、天然物 WIN 64821 とその立体異性体の生理活性評価により構造活性相関研究を行う。同一分子量を有する化合物群の供出により、化合物の一次スクリーニングと立体化学を指標とした系統的な構造活性相関研究が一挙に行うことができるメリットがある。活性発現に不可欠な立体化学の組み合わせを特定したのちに、芳香環、アミノ酸側鎖、窒素上の置換基を多様化する。ことでより活性の高い化合物の創製が期待されます効率的に分子の最適化が可能なことを実証する。

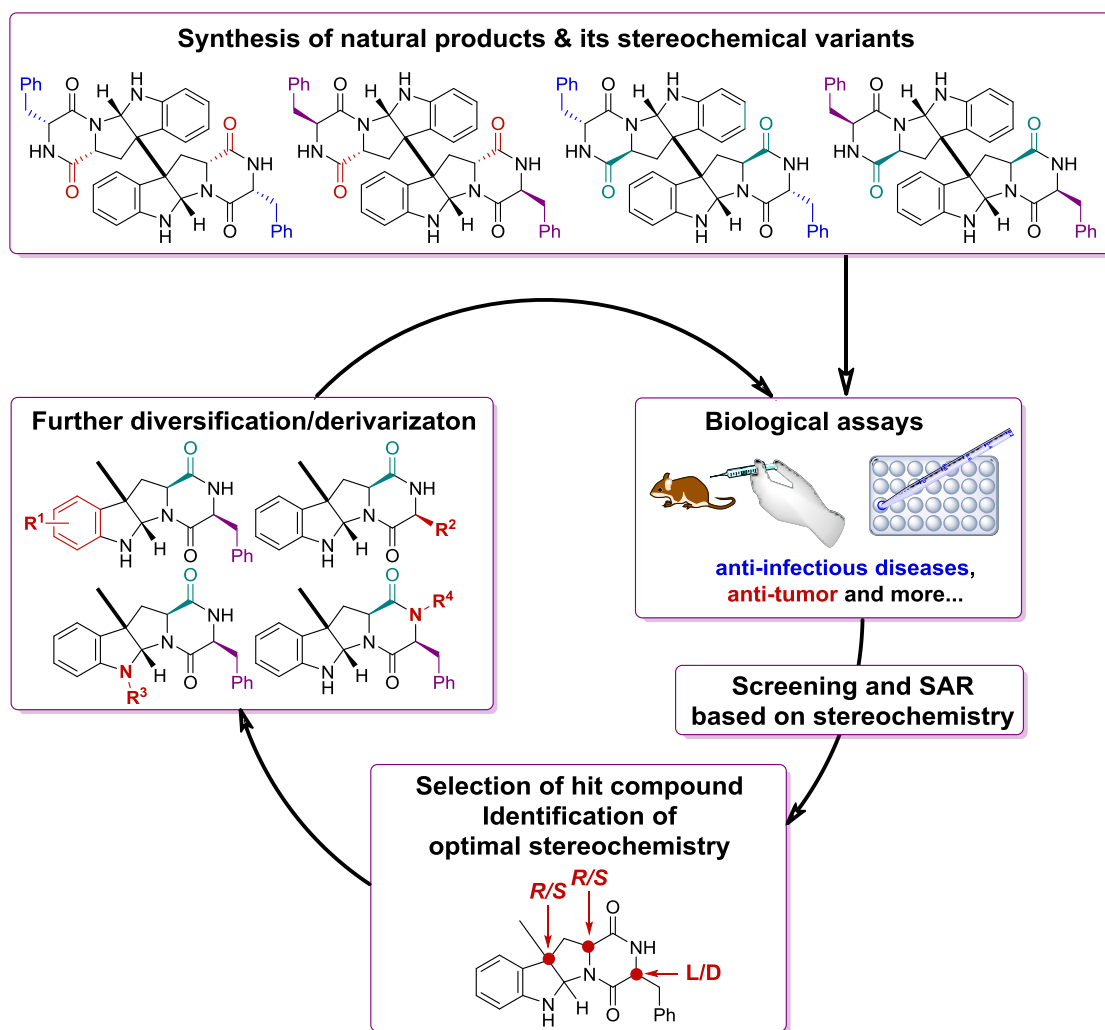


Figure 8 立体化学に基づく構造活性相関研究とリード化合物最適化

これを実現するため、遷移金属触媒を用いたビスピロリジノインドリン隣接四級炭素構築法を開発する。ビスピロリジノインドリンを母骨格とする天然物群にはトリプトファン由来のものとトリプタミン由来のものがあるので、いずれの基質にも適用可能な汎用性の高い反応の開発を目指す。開発した触媒的二量化反応を鍵工程として合成後期で縮環部立

体化学を改変しながら天然物 WIN 64821 とその立体異性体を系統的に合成する。また、トリプタミン誘導体からは天然物 chimonanthine と folicanthine への誘導を目指した。

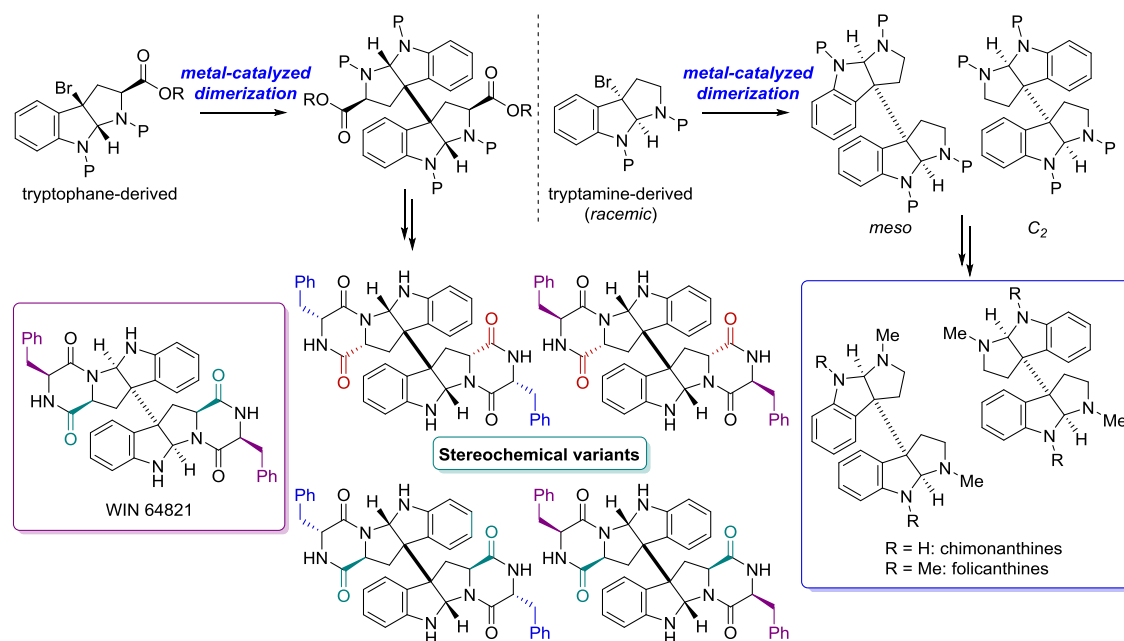
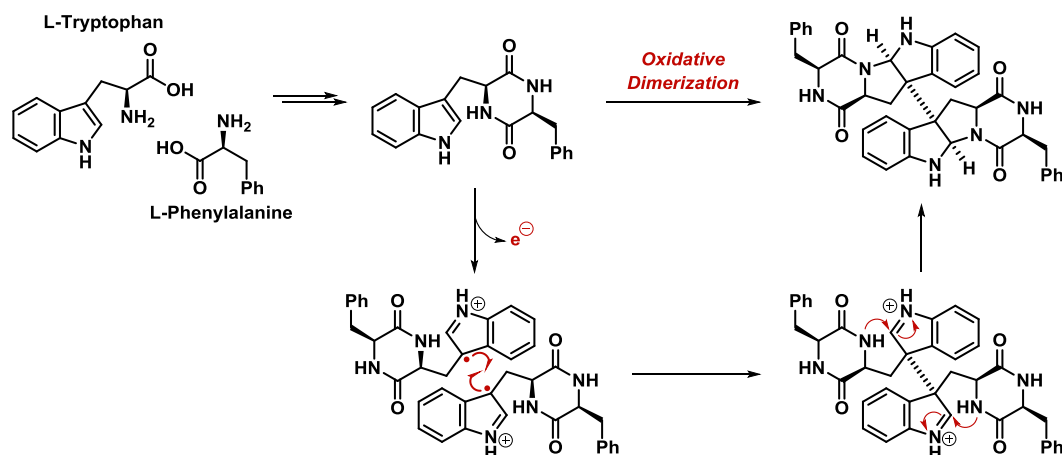


Figure 9 遷移金属触媒によるピロリジノインドリン二量化反応の開発と骨格多様化合成

以下に WIN 64821 の推定生合成経路を示した (Scheme 5)。¹⁴トリプトファンとフェニルアラニンが縮合してジケトピペラジンを有する単量体が生じ、ベンジル位が一電子酸化されることによってラジカルが生じる。2 分子のラジカルが連結して二量体を形成してからイミニウムを解消するように 5 員環を形成する、という経路である。

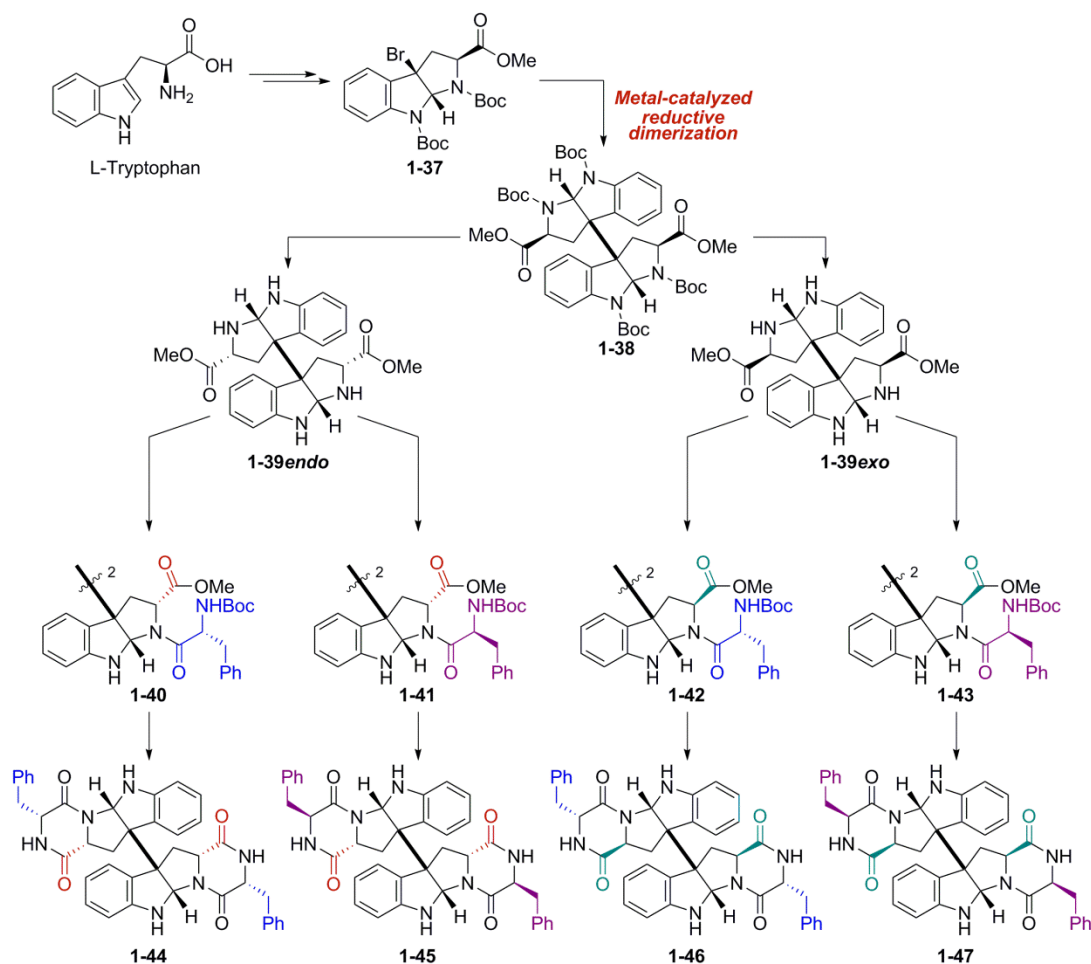
Scheme 5 WIN 64821 の推定生合成経路



WIN 64821 は生産菌を利用した置換基の改変がすでに報告されていることから¹⁵、生合成プロセスでは生成しない中間体を経由しながら構造多様化を行う経路を立案した。ヒット化合物が発見された際の官能基改変が柔軟に行えるよう、アミノ酸連結や立体化学の改変が容易な前駆体を経由することとした。具体的には、まずピロリジノインドリンを予め構築した臭化物 **1-37** を立体選択的に合成する。ベンジル位に導入した臭素を足掛かりに遷移金属を用いた触媒的二量化でビスピロリジノインドリン **1-38** へと変換する。二量化後に立体化学の改変とアミノ酸を連結して非生合成中間体ジペプチド群とすることで立体化学とアミノ酸側鎖に多様性を創出できると考えた (**1-40**~**1-43**)。最後にジケトピペラジンを構築して WIN 64821 とそのアナログ群 (**1-44**~**1-47**) を合成する計画である。

2 章ではピロリジノインドリンの触媒的二量化反応の開発について述べ、3 章で WIN 64821 の立体異性体群の系統的合成とその生理活性評価について報告する。

Scheme 6 立体化学の改変による 4 系統の二量体型アルカロイド合成プロセス



-
- ¹ Newman, D. J.; Cragg, G. M.; Snader, K. M. *J. Nat. Prod.* **2003**, *66*, 1022. Carter, G. T.; Koehn, F.E. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2005**, *4*, 206.
- ² Wender, P. A.; Verma, V. A.; Paxton, T. J.; Pillow, T. H. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 40.
- ³ Dobson, C. M. *Nature* **2004**, *432*, 824.
- ⁴ Burke, M. D.; Schreiber, S. L. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2004**, *43*, 46. Galloway, W. R. J. D.; Isidro-Llobet, A.; Spring, D. R. *Nat. Commun.* 2010, doi:10.1038/ncomms1081)
- ⁵ Kwon, O.; Park, S. B.; Schreiber, S. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 13402.
- ⁶ Burke, M. D.; Berger, E. M.; Schreiber, S. L. *Science* **2003**, *302*, 613.
- ⁷ Stanton, B. Z.; Peng, L. F.; Maloof, N.; Nakai, K.; Wang, Z.; Duffner, J. L.; Taveras, K. M.; Hyman, J. M.; Lee, S. W.; Koehler, A. N.; Chen, J. K.; Fox, J. L.; Mandinova, A.; Schreiber, S. L. *Nat. Chem. Biol.* **2009**, *5*, 154.
- ⁸ Wetzol, S.; Bon, R. S.; Kumar, K.; Waldmann, H. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 10800.
- ⁹ Corrêa Jr. I. R.; Nören-Müller, A.; Ambrosi, H.-D.; Jakupovic, S.; Saxena, K.; Schwalbe, H.; Kumar, K.; Waldmann, H. *Chem. Asia. J.* **2007**, *2*, 1109.
- ¹⁰ a) Oguri, H.; Yamagishi, Y.; Hiruma, T.; Oikawa, H. *Org. Lett.* **2009**, *11*, 601. b) Oguri, H.; Hiruma, T.; Yamagishi, Y.; Oikawa, H.; Ishiyama, A.; Otoguro, K.; Yamada, H.; Omura, S. *J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 7096.
- ¹¹ Mizoguchi, H.; Oikawa, H.; Oguri, H. *Nat. Chem.*
- ¹² a) Ishigaki, Y.; Mahendar, V.; Oguri, H.; Oikawa, H. *Chem. Commun.*, **2010**, *46*, 3304. b) Mahendar, V.; Oikawa, H.; Oguri, H. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 2299
- ¹³ Mizoguchi, H.; Oikawa, H.; Oguri, H. *Nat. Chem.* Advanced online publication)
- ¹⁴ a) Steven, A.; Overman, L. E. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 5488. b) Schmidt, M. A.; Movassaghi, M. *Synlett* **2008**, *3*, 313.
- ¹⁵ a) 平本昌志、宮田祐、柴崎充至、斎田裕治 天然有機化合物討論会要旨集 P-23 **1994**, *36*, 557. b) Barrow, C. J.; Musza, L. L.; Cooper, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 377.

第2章 ピロリジノインドリンの触媒的二量化法の開発

2-1 二量体型天然物

天然物の中には二量化、もしくは多量化した化合物群が数多く存在している。Greer らの2004 年の報告によると、天然物に関連する 3000 報の論文のうち 17%が二量体である（10%は非対称分子、7%は対称分子）ことが指摘されている¹。Yu らによると、彼らが2009 年1月に Scifinder で「dimer natural product」と検索をかけた場合、約 700 報の論文がヒットするそうである。10 年毎の報告数は、1960 年以前は 14 報、1960-1969 年には 6 報、1970-1979 年には 16 報、1980-1989 年には 67 報、1990-1999 年には 165 報、2000-2008 年には 330 報となり、常に倍以上に増加している²。1900 年代中盤に報告例が少ないのは、分析手法の発達していないことに起因すると推察される。

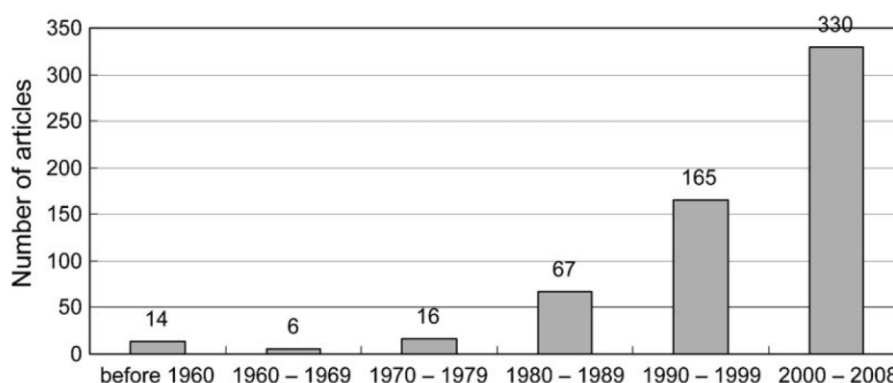


Figure 1 10 年ごとの二量体型天然物の報告数

二量体・多量体は多種多様な代謝産物で報告されている。フェニルアラニンより生合成されるフェニルプロパノイドは多量体の宝庫である。その代表例としては podophyllotoxin 類、lignan 類、sesamin 類が挙げられる。イソプレヌユニットの連結という生合成メカニズムから考えると、フェニルプロパノイド同様にテルペン類（の母骨格）は多量体であると考えられるが、実際のところは一般にはジテルペンは二量体とはみなされていないことが多いようである。また、アルカロイドやペプチド系天然物にも二量体・多量体が数多く報告されている。

生合成において二量体を与える反応について、Diels-Alder 反応、その他協奏的反応 ([2+2]、[4+4]等)、ラジカル反応、エステル化、アセタール形成、Friedel-Crafts 型反応が主なものである。これにより、二量体の分子構造にも多様性が生じる。同一分子からなる二量体に限定しても、対称な化合物、二量化反応で非対称化したもの、二量化の後に非対称化修飾を受けた化合物など多くのバリエーションが存在する。さらに異なる 2 分子からなる二量体の場合は、類似した生合成中間体に由来する 2 分子が連結したもの以外にも、全く構造の異なる天然物同士が連結したものも報告されている。

[2+2]型反応で生合成されると推察される化合物の一群にセスキテルペノイド二量体が挙げられる。その一例である chloranthalactone F はシクロブタン環を中央に有するホモ二量体である³。その推定二量化前駆体 chloranthalactone A が単離されていることから、単量体の六員環内のオレフィンが[2+2]環化付加反応することで生合成されると推察される。

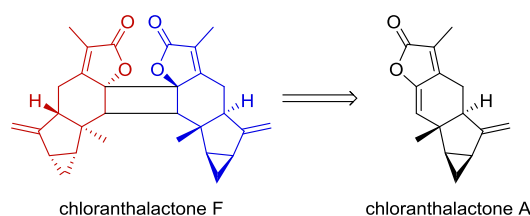


Figure 2 chloranthalactone F とその前駆体 chloranthalactone A

また、2 種類の推定生合成前駆体が天然物として知られている例として、抗 HIV 活性を有する天然物 biyouyanagin 類がある⁴。biyouyanagin A はその構造から、*ent*-zingiberene と hyperolactone C の[2+2]環化付加反応で生合成されていることが予想される。Nicolaou らは 2 種類の二量化前駆体とそのアナログ群を合成し、光照射による [2+2]型反応で biyouyanagin A の全合成とアナログ合成を達成している⁵。

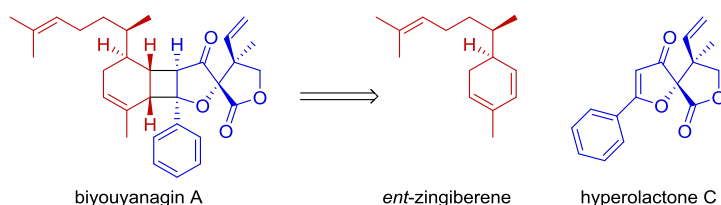


Figure 3 天然物 biyouyanagin A とその推定生合成前駆体天然物

対称構造を有するマクロライドは、分子間エステル化反応とマクロラクトン化で二量化しながら大員環を形成していると推察される。cyanolide A⁶は分子内にカルボン酸とヒドロキシル基を有する単量体がお互いに他方の分子とエステル化反応を起こすことで生合成さ

れていると予想される。二分子が互いに攻撃し合い二量化をした例としては **ritterazine** 類⁷ も挙げられる。アミノ酸のようにカルボニルの α 位がアミノ化された単量体が生成し、互いに求核攻撃をしあいながら最後に酸化されることで分子中央のピラジン環が構築されると推察される。

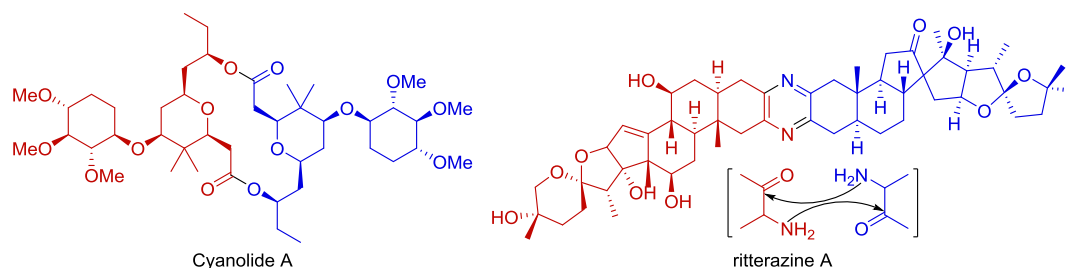


Figure 4 2 分子が互いに攻撃し合うことで二量化した天然物の例

Friedel-Crafts 型反応で二量化する例には抗がん剤として使用されている **vinblastine** が挙げられる。この化合物もまた **biyouyanagin** と同様に、二量化前駆体自体が天然物の例である。生合成的には **catharanthine** の環開裂により生じたイミニウム中間体に対し、**vindoline** のメトキシ基からの電子の押し込みによる求核反応が進行するメカニズムが提唱されている。合成化学的は、Boger らが塩化鉄(III)を用いた二分子間のクロスカップリングにより生合成と同様の二量化を実現している⁸。この時天然型の異性体のみが生成している。

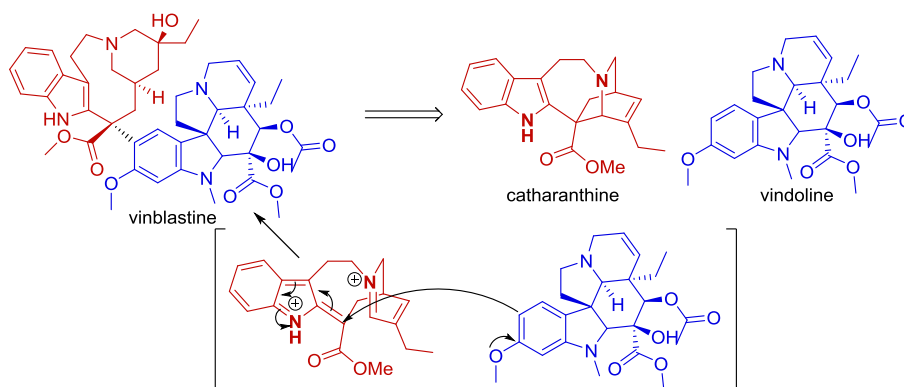


Figure 5 **vinblastine** とその前駆体 **catharanthine**、**vindoline**

ラジカル反応に由来する天然物も数多い。一見するだけでラジカルホモ二量化によって生成すると予想される対称分子であれば、すぐにはラジカルが関与したとは考えられないものもある。二量化の機構にはビラジカルが関与すると考えられるものも知られておりその一例として **ligulolide B** がある⁹。赤で示した単量体のフラン環が酸素の付加によりペルオキシド構造となり脱酸素を伴いながらビラジカルが生成すると予想される。

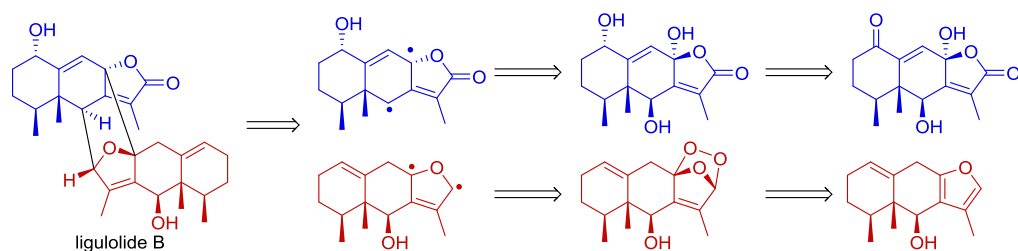


Figure 6 ligulolide B とその推定生合成機構

本研究で取り上げた構造モチーフの一つであるビスピロリジノインドリンも、前節でも述べたように単量体がラジカル機構で二量化していることが推察されている。天然物には C_2 対称なものほかに *meso* 対称な分子も数多く報告されている事実もラジカル機構を支持するものと考えられる。

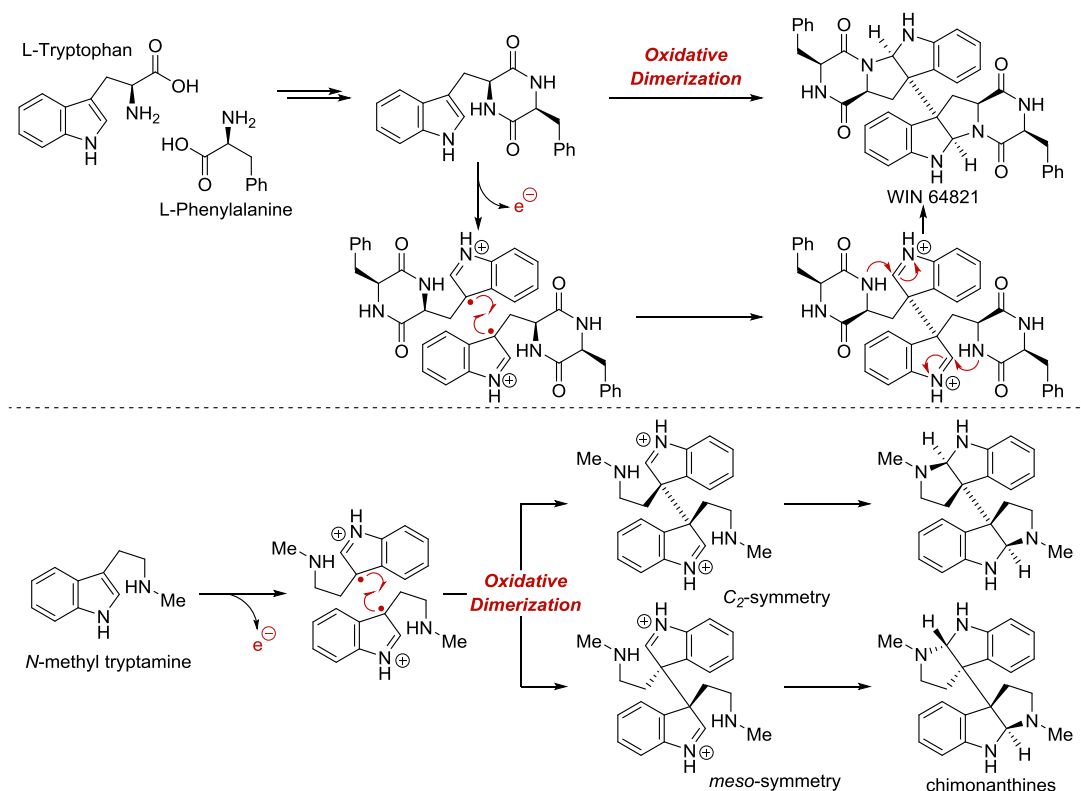


Figure 7 酸化的二量化によるビスピロリジノインドリン天然物群の生合成

二量体型天然物はその構造のみならず、強力な生理活性を示すことから魅力的な化合物群である。二量体の生理活性は単量体のそれに比べて強力であることがしばしば指摘されているからである。我々はこの理由について、二量化・多量化によって官能基の数が増加したことで多点相互作用による標的分子の特異的認識と活性の向上がもたらされたと考えている。

2-2 遷移金属を用いた二量化反応

有機化合物の二量化反応は古くから研究され、多様な反応が開発されてきた。広い視点から見れば単一分子を基質とするアルドール縮合と **Claisen** 縮合（一方が求核剤、で他方が求電子剤）、**Diels-Alder** 反応（一方がジエン、他方がジエノフィル）等も二量化反応とみなすことができるが、ここでは触れないこととする。カルボニル化合物の二量化反応としては **pinacol** カップリングによる 1,2 ジオール形成、**McMurry** カップリングによる脱酸素を伴うオレフィンの形成が知られている。また、オレフィンやアルキンの二量化はメタセシス触媒を用いて実現できるようになってきた。

金属試薬を用いた有機ハロゲン化物の二量化は特に古くから研究されてきた分野である。最古のものは **Wurtz** カップリングだと考えられ¹⁰、このアリールハライドの還元的二量化は 1850 年代に既に研究が開始されていた。続いて 1900 年代初頭に **Ullmann** 反応が報告され¹¹、銅を用いたビフェニルの合成法が開拓された。その後、金属試薬を用いたハロゲン化有機物の連結反応はクロスカップリングへと興味の対象が変化していったことで、ホモ二量化の注目度が若干低下することとなる。例えば、**Grignard** 試薬のカルボニルへの付加や鈴木-宮浦カップリングではホモ二量体が生成することが知られているが、副反応とみなされてその抑制のための手法が中心に検討されてきた。しかしながら、天然物、医薬品、農薬、その他機能性化合物のビルディングブロックとしてビアリアル、ビフェニルは重要なビルディングブロックであり、最も直接的な合成法であるホモ二量化反応の研究が途絶えることはなかった。ベンジルブロマイドのような単純な基質の二量化反応について 1980 年代以降で一例を挙げると、コバルト¹²、ニッケル¹³、銅¹⁴、鉄¹⁵、インジウム¹⁶、ランタン¹⁷、亜鉛¹⁸、マンガニ¹⁹、チタン²⁰等の多種多様な金属を用いた反応が報告されてきた。

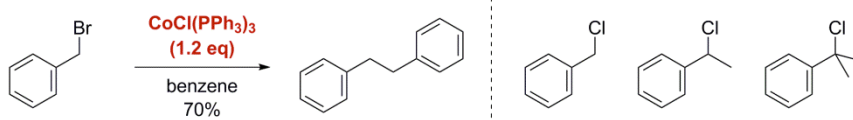
金属を用いた二量化反応の開発においては、温和な反応条件で反応条件の面からは温和な系と触媒的に進行する系の探索がなされてきた。また、基質の面からはアリール以外にもアリルやアルキルといった不活性な基質を適用可能な系の探索へと展開されてきた。しかしながら、**Grubbs** 触媒を用いたオレフィンメタセシスのように触媒反応でありながら天然物合成の後半の基質にも適用可能な官能基許容性を持ち、なおかつ温和な条件で進行する反応は限られている。

天然物合成に適用可能な複雑な構造を有する単量体の二量化を実現した反応剤として、1981 年に山田らが報告した $\text{CoCl}(\text{PPh}_3)_3$ が挙げられる (Scheme 1)。2003 年、**Baldwin** らはこの 1 価のコバルト錯体を用いた二量化反応を鍵工程としてセスキテルペンラクトン **biatractylolide** と **biepiasterolide** の全合成を達成している²¹。不斉点を 1 つ有する 2 環性アリルクロライドの予備検討では 57% の収率で二量体が得られ、異性体の生成比は C_2 型が *meso* 型に比べて圧倒的な選択性であった (C_2 : *meso* = 98:2)²²。天然物前駆体の 3 環性基質を使用したところ二量体の収率が低下し、異性体の生成比は変化した。しかしながら、温和な条件で複雑な構造の単量体を連結可能な本反応の有用性が示された。さらに 2007 年には、**Movassaghi** らは同錯体がピロリジノインドリン臭化物の還元的二量化に有効であることを見出した²³。この報告を皮切りに、**de Lera**²⁴、**Movassaghi**²⁵、**袖岡**²⁶らによって、ピロリジノインドリンの還元的二量化を鍵工程とするトリプトファン由来ビスピロリジノ

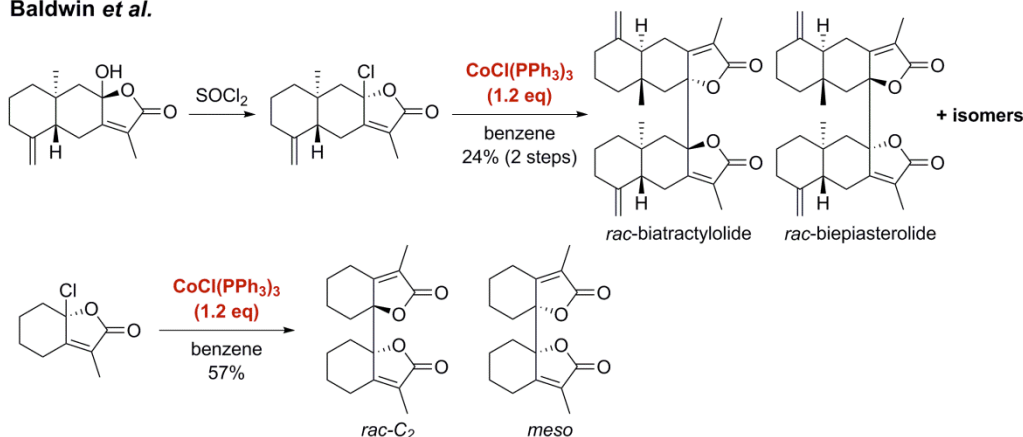
インドリン天然物の全合成が次々と達成された。これらの報告により、 $\text{CoCl}(\text{PPh}_3)_3$ がカルボニル、アミド、ベンゼンスルホニルが共存する多官能性のかさ高い基質でも二量化反応を効率よく進行させられる高い反応性と官能基許容性を有していることが示された。しかしながら、量論反応であることに加え、基質に対して 4 当量以上のトリフェニルホスフィンを反応生成物から除去しなければならないことがこの反応の課題点であり、改良の余地があると考えた。本研究は天然物合成に適用可能な多官能性のかさ高い 3 級ハライドの触媒的二量化反応を目指すものである。

Scheme 1 $\text{CoCl}(\text{PPh}_3)_3$ を用いたハライドの二量化

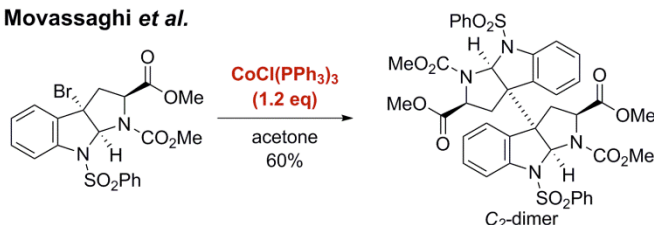
Yamada *et al.*



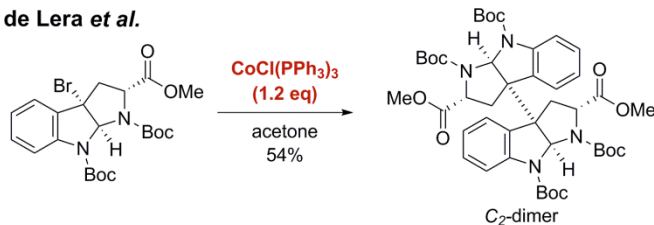
Baldwin *et al.*



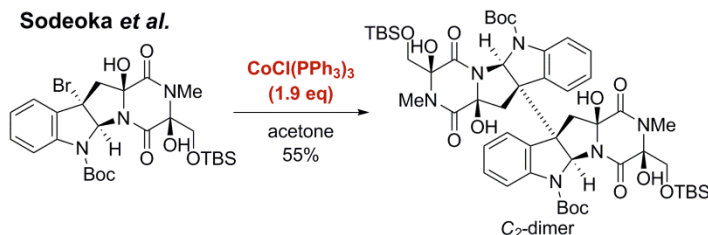
Movassaghi *et al.*



de Lera *et al.*



Sodeoka *et al.*



2-3 ビスピロリジノインドリン骨格を有する天然物 WIN 64821

トリプトファン由来のビスピロリジノインドリン骨格を有する天然物で最も単純な構造をしたものは WIN 64821 (1) である。1993 年、Barrow らは P 物質アンタゴニスト活性を示す化合物の探索において、土壌由来の *Aspergillus sp.* が生産する二量体型アルカロイド 1 とその類縁体 WIN 64745 (2) を発見した²⁷。その構造上の特徴として、 C_2 対称なスピロリジノインドリン二量体型骨格とアミノ酸由来のジケトピペラジンが縮環した構造が挙げられる。Barrow らは 1 と 3、モノマーの詳細なスペクトル解析を行い 1 の立体化学を決定した。

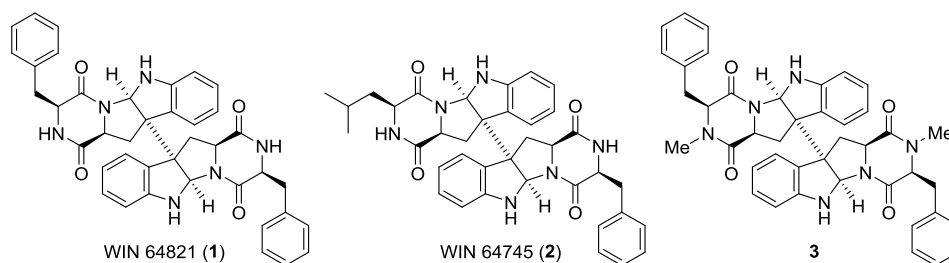


Figure 8 WIN 64821 とその類縁体

1 の構造活性相関研究は過去に数例報告されている。Barrow らは 1994 年と 1995 年、1 とそのアナログについて P 物質アンタゴニスト作用について構造活性相関を調査して報告した^{28,29}。P 物質 (substance P) とは 11 アミノ酸からなる神経ペプチドで、刺激に応じて一次知覚神経から遊離され、NK₁ 受容体に結合する。NK₁ 受容体はヒトの侵害受容、情動 (不安や抑うつ) および嘔吐などへ関与することが示唆されている。P 物質アンタゴニストと NK₁ 受容体アンタゴニストはほぼ同義であり、抗うつ薬、制嘔吐剤として扱われる。P 物質の関連する生体機能が多いことから、藤沢薬品工業 (現アステラス製薬) の萩原によると、P 物質アンタゴニストは鎮痛剤、向精神薬、消化器疾患治療薬、抗ぜんそく薬になると指摘されている³⁰。

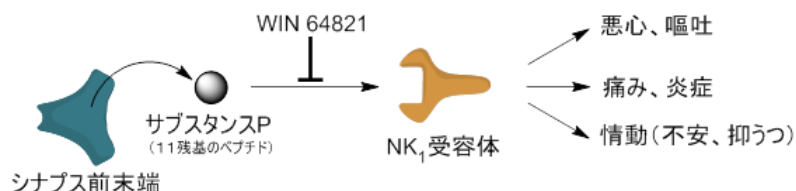


Figure 9 WIN 64821 による P 物質の NK₁ 受容体への結合阻害

1994 年の報告では *Aspergillus* sp., SC319 の菌体培養液に生合成基質誘導体を投与して二量体型天然物アナログを生産させ、その構造活性相関を調査した。その結果、インドール上にメチル基やハロゲンを導入すると活性が低下することが判明した。特に、両方のインドールに置換基が導入されると活性の低下がより顕著になる。フェニルアラニンのベンゼン環にメチル基を導入した場合に活性はほとんど低下しないが、フェニル基をアルキル基に置換すると活性が低下する傾向が見られた。1995 年の報告では先の生合成経路を利用して得られたアナログに加えて、化学合成により単量体の誘導体を調製して活性を評価した。5 位がモノメチル化 (4) されると若干の活性の低下が、5,5'位が共にメチル化された場合 (5) に大幅に活性の低下が観測された。単量体のベンジル位にメチレンを介してニトロ基を有するフェノール誘導体を連結した合成化合物群の活性評価では、1) ジケトピペラジンのアミド窒素上の置換基 (8,9) は活性低下を招くこと、2) フェノールのメチル化 (10, 11) は活性に影響しないこと、3) ニトロ基を還元してメトキシ基を有するアニリン誘導体へと変換する (12,13) と活性が向上すること、がそれぞれ明らかにされた。しかし最も活性が高いアニリン誘導体でも活性は天然物の 1/10 の程度の値であった。これより、NK-1 受容体への結合に対称骨格は必須ではないものの、高いアフィニティーを実現するには適切な親水基と疎水基の配向を有するピロリジノインドリン二量体の重要性が強く示唆された結果となった。

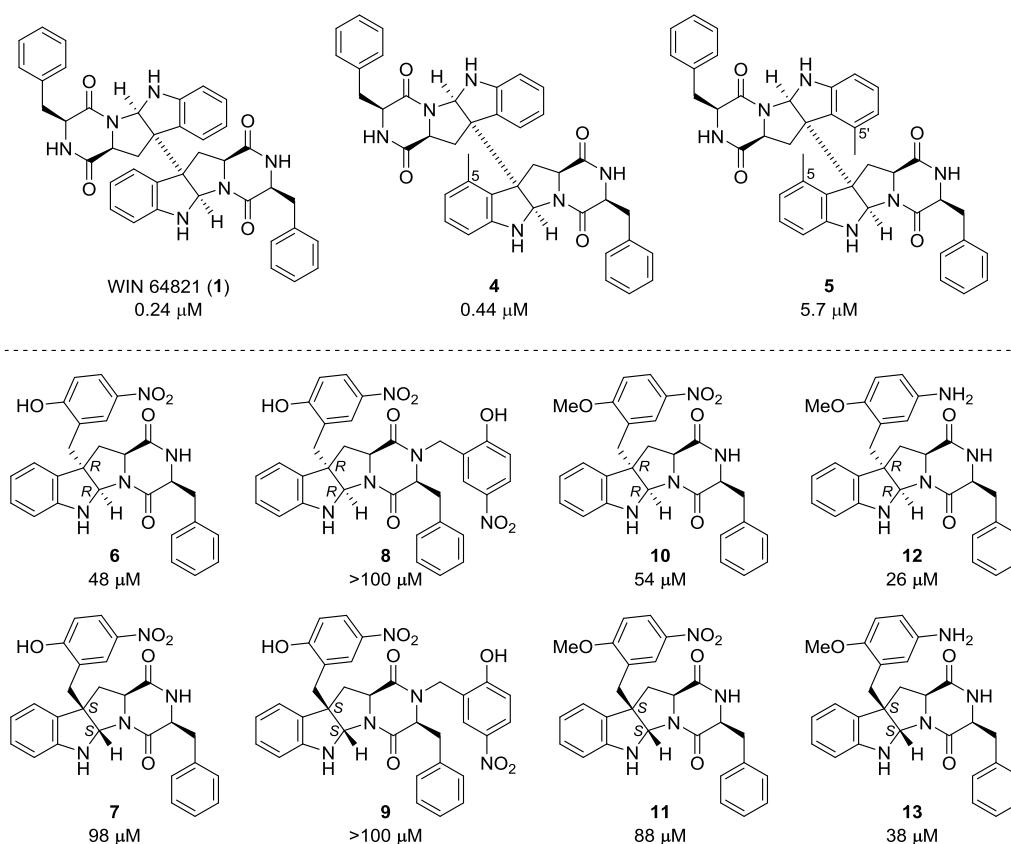


Figure 10 WIN 64821 アナログと NK-1 受容体の阻害活性(IC₅₀)

山之内創薬の平本らは 1994 年の天然有機化合物討論会において、WIN 64821 とそのアナログのコレシストキニン(CCK)に対するアンタゴニスト活性を報告した³¹。CCK もペプチドホルモンであるが、CCK-B 受容体の阻害薬は抗潰瘍剤として開発されていた。

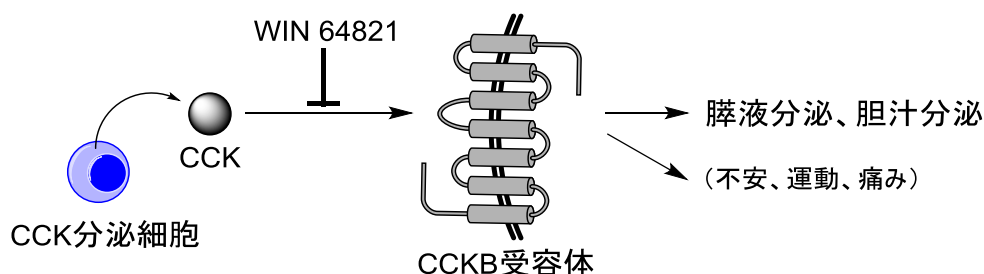


Figure 11 WIN 64821 による CCK の CCK-B 受容体への結合阻害

Barrow らと同様に生産菌に生合成中間体の誘導体を取り込まれるアプローチでアナログ群を合成した。具体的には、フェニルアラニンに由来するベンゼン環上に置換基を有するアナログやアミノ酸自体を置換したアナログを生産させた。作用標的は CCK-B 受容体であるが、構造活性相関の結果は Barrow らと同様の傾向を示した。すなわち、フェニル基への置換基導入は活性が不変または向上の場合もあったが、フェニル基自体の置換やインドール由来芳香環への置換基導入は活性の低下を招く場合が多かった。なお、興味深い記述として微量に検出された立体化学を改変した異性体の活性評価が挙げられる。これによると、WIN 64821 (**1**)の CCK-B 受容体の阻害に関する IC_{50} は 80 nM であり、一方の 11 位の立体化学が反転した非対称アナログ **14a** では活性の低下が、11,11'位の立体化学が反転した対称アナログ **14b** では活性の大幅な低下が観測された。また、*meso* 型ピロリジノインドリン二量体骨格を有する非対称アナログ **15** では活性にはさほど違いはなかった。

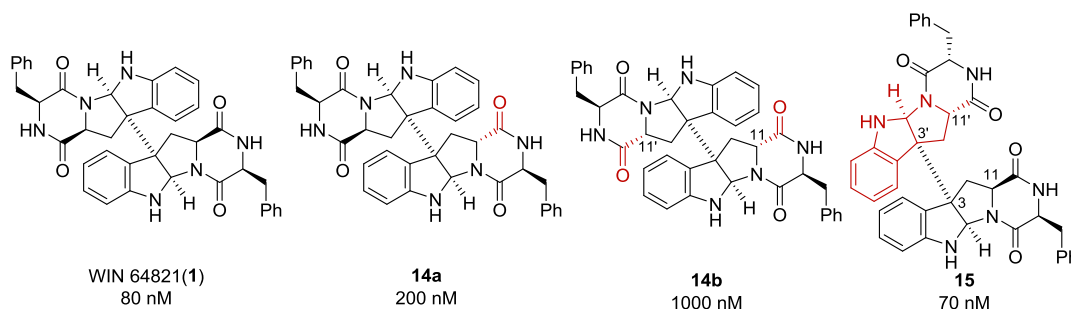


Figure 12 WIN 64821 アナログと CCK-B 受容体の阻害活性(IC_{50})

このように、WIN 64821 (**1**)に関連するアルカロイド類においては菌類の培養により供給したアナログ合成で構造活性相関が調査されてきた。主に置換基の改変の効果をまとめると、NK-1 受容体や CCK-B 受容体への結合には 1) 天然型 (*endo*) 立体化学のピロリジ

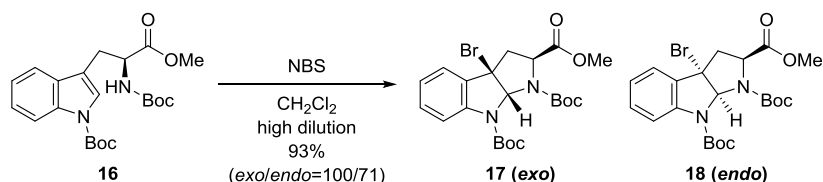
ノインドリンが 1 ユニット、2) そのベンジル位に連結した親水基を有する芳香環構造、この 2 つが重要であることが示唆されている。天然物やそのアナログの系統的な評価にはサンプルのバリエーションに制約があり、立体化学の改変が活性に与える影響を見積もることはできていない。1、14a、14b の IC₅₀ 値の違いに見て取れるように、*endo/exo* の改変だけで劇的に活性が変化したことは注目に値する結果である。本研究では、縮環部立体化学を系統的に改変したアナログ群を合成し、特定の立体化学を有するアナログについて選択的に顕著な知り活性が発現する系を見出していく。

2-4 二量化前駆体の合成

二量化の検討に使用する基質は、de Lera らが報告した C1 位カルボニル基の立体化学が *exo* 配向の臭化物 **17** とした。また、C1 位カルボニル基が *endo* 配向のジアステレオマー **18** を用いて開発した二量化反応の基質適用範囲を検討することとした。原料 **16** のような二つの窒素にカルバメート保護基を連結した基質の臭化物への変換では、*exo* 選択的な環化条件しか報告されておらず³²、一回の反応で両ジアステレオマーを効率的に合成できる環化・臭素化条件の検討を行った。

検討の結果、臭素化剤 NBS を予め大量のジクロロメタンに溶解させておき、その溶液にトリプトファン誘導体 **16** を加えて高希釈条件 (0.01 M 程度) で 24 時間ほど撹拌することで、*endo* 体 **18** の生成比を向上させることができた。臭素化体の収率は合わせて 93% であり、*exo/endo* 比は 100/71 であった (*exo* 体 **17** : 54%、*endo* 体 **18** : 39%)。両ジアステレオマーはシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより分離することができた。試薬添加の順序を逆転させ、基質 **16** のジクロロメタン溶液に NBS を加えた場合は *exo* 選択性が高まり、*endo* 生成比には大きなばらつきが生じた。したがって、再現性良く結果を得るためには試薬を加える順序が重要であると判明した。

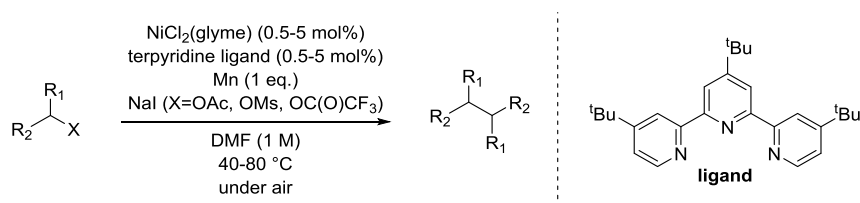
Scheme 2 ピロリジノインドリン臭化物の合成



2-5 二量化反応の探索

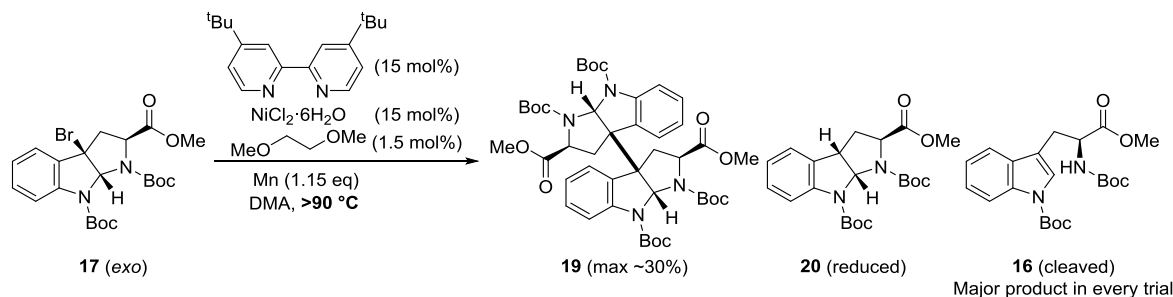
2010 年に Weix らは、二価のニッケルを用いるハロゲン化アルキルのホモ二量化を報告した³³。彼らはこの論文の中で、触媒金属として $\text{NiCl}_2(\text{glyme})$ を、配位子として 4,4',4''-tri-*tert*-butyl-2,2':6',2''-terpyridine を、還元剤としてマンガンを用いて、これらを DMF 溶媒中で基質と共に 40-80 °C に加熱することで効率的に二量化反応が進行することを明らかにした。添加剤として NaI を加えることで擬ハロゲン化物 (OMs, OAc, OC(O)CF₃) を基質として用いることができ、また、反応は空気中で行ってもほとんど収率が低下しないことも報告された。

Scheme 3 Weix らによるニッケル触媒を用いた還元的ホモ二量化反応



我々はこの反応系を参考に、金属触媒として塩化ニッケル(II)六水和物、配位子を 4,4'-di-*tert*-butyl-2,2'-bipyridyl として、*exo* 配向臭素化物 **17** を還元剤マンガンと共に加熱した。その結果、複雑な反応混合物中に少量ながら目的物である *C*₂ 対称二量体 **19** が得られることが判明した。主生成物は環開裂をした単量体 **16** であり、ベンジル位が水素化された還元体 **20** も得られることが判明した。

Scheme 4 ビピリジル配位子を用いたピロリジノインドリンの二量化反応



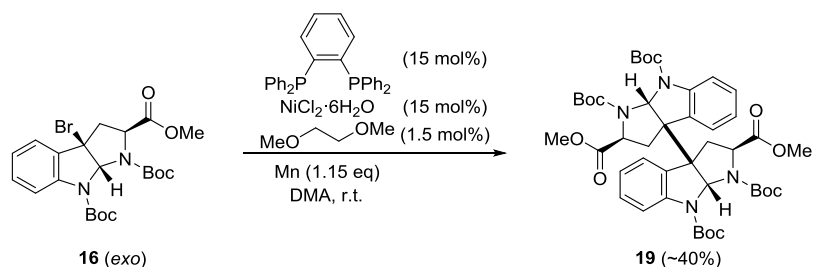
加熱による DMF の分解を防ぐために溶媒をジメチルアセトアミド (DMA) へと変更して反応条件を検討した。加熱温度に関して、45-65 °C 程度では不十分であり、反応が遅く完結しなかった。二量体 **19** を得るには 90-105 °C 程度の加熱が必要であったが、高温による原料の分解と反応生成物が複雑な混合物になる点に問題があった。続いて還元剤の検討

を行った。マンガンに代えて亜鉛とインジウムを用いた場合、環開裂をした単量体 **16** の生成比が大幅に上昇した。したがって、本系に最も適した還元剤はマンガンであると決定した。反応効率の改善を目的として NaI を添加して同様の反応を行ったが、こちらも **16** の生成比が大幅に上昇した。また、他のニッケルソースを検討した。無水臭化ニッケル(II)とビストリフェニルホスフィン塩化ニッケル(II)を用いると複雑な混合物を与え、初めに用いた塩化ニッケル(II)六水和物が最も適していることが判明した。以上を踏まえ、金属触媒を塩化ニッケル(II)六水和物、配位子を 4,4'-di-*tert*-butyl-2,2'-bipyridyl とする反応系では、還元剤をマンガンとし、加熱温度は 95 °C 以下に抑え、反応時間は長くとも 12 時間とするという条件を採用した。この条件のもと 15 mol% のニッケルを用いると、単離収率 25-30% 程度で目的とする二量体 **19** を再現良く得ることができた。しかしながら、反応系が複雑化すること、環開裂により生じた **16** が主生成物となる問題点は改善できなかった。

2-6 二量化反応条件の最適化

前節で見出したピロリジノインドリン臭化物の二量化効率の改善を目指して、試薬の組み合わせの変更を検討した。京都大学の中村正治らは、鉄を用いたクロスカップリング反応の開発に注力しており³⁴、その際、ジホスフィン配位子がラジカルを安定化することを指摘していた。我々はこのラジカルを安定化に着目し、配位子をビピリジルからジフェニルホスフィノベンゼン (DPPBz) へと変更した。その結果、反応は室温で進行し、目的とする二量体 **19** が主生成物として 40%程度の収率で得られた(Scheme X)。還元剤としてマンガン、亜鉛、インジウムを検討したところ、前節の最適化と同様にマンガンが最も収率良く二量体を与えた。一方で、インジウムでは環開裂が促進されることが判明した。

Scheme 5 二価のニッケル触媒と二座のホスフィン配位子を用いた還元的二量化



この結果を受け、ホスフィン配位子を用いる条件で二量化反応の最適化を検討した。DPPBz は比較的高価な配位子であることから、代替品として安価なジフェニルホスフィノエタン (DPPE) を用いることとした。還元剤をマンガン、溶媒をジメチルアセトアミド (DMA) で固定し、最適な金属触媒を探索した。塩化銅(II)、塩化鉄(III)、塩化インジウム(III)を触媒とした場合、環開裂した単量体 **16** が主生成物となった (Table1, entry1-3)。一方、塩化コバルト(II)を触媒とした場合、所望の二量体 **19** が 46%の収率で主生成物として得られた (Table1, entry4)。無水塩化ニッケル(II)を触媒としたところ反応自体がほとんど進行せず、75%の単離収率で原料回収となった (Table1, entry5)。この原因は塩化ニッケルが溶媒に溶解していなかったことに起因すると考えられる。塩化ニッケル(II)六水和物を触媒とした際に **19** の収率は 60%で二量化収率が最高となった (Table1, entry6)。以上より、触媒金属を塩化ニッケル(II)六水和物とし、配位子、溶媒の最適化を行うこととした。

Scheme 6 触媒金属の探索

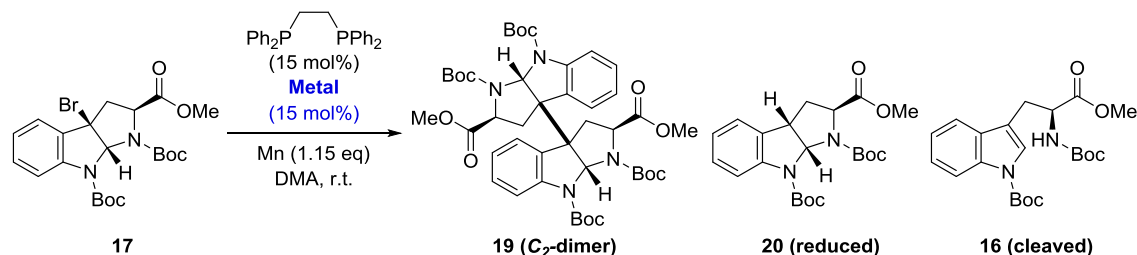


Table 1 触媒金属の探索

Entry	Metal	19 [%] ^a (C_2 -dimer)	20 [%] ^a (reduced)	16 [%] ^a (cleaved)	17 [%] ^a (recovery)
1	CuCl_2	trace	trace	77	0
2	FeCl_3	trace	14	64	0
3	InCl_3	12	<5	74	0
4	CoCl_2	46	18	<5	0
5	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	60	17	8	0
6	NiCl_2	trace	trace	7	75
7	$\text{NiCl}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$	52	13	5	0

a) Isolated yields, average of two trials.

配位子の最適化を行った。単座配位子であるトリフェニルホスフィン (PPh_3) を用いた場合 (table2, entry1)、12 時間でも反応は完結しなかった。所望の二量体 **19** の収率が 11% と低く、相当量の **20** と **16** が副生したから単座配位子は本系に不適と考えられた。2 つのホスフィンがフェロセンで架橋されたジフェニルホスフィノフェロセン (DPPF) を用いた場合 (table2, entry2)、基質 **17** は消失したものの二量体 **19** の収率が 28% と選択性が低い点に問題があった。続いて、ホスフィンを連結するアルキル鎖長がそれぞれ異なるジフェニルホスフィノブタン (DPPB, C_4)、ジフェニルホスフィノプロパン (DPPP, C_3)、ジフェニルホスフィノエタン (DPPE, C_2) を検討した (table2, entry3-5)。その結果、アルキル鎖長と反応効率と二量体 **19** の収率には相関があることが判明した。即ち、基質の変換効率 (DPPE: 100% > DPPP: 95% > DPPB: 90%) と二量化収率 (DPPE: 60% > DPPP: 56% > DPPB: 46%) はいずれも、炭素鎖が短くなるほど良い結果を与えた。ベンゼンでホスフィンが架橋されたジフェニルホスフィノベンゼン (DPPBz, C_2) の場合でも同様の傾向がみられ (table2, entry6)、55% の収率で **19** が主生成物となった。したがって、本触媒系においてはホスフィンを二炭素で連結した二座のホスフィン配位子が最適と考えられた。以降の検討では DPPE を最適な配位子として選択することとした。

Scheme 7 二座ホスフィン配位子の検討

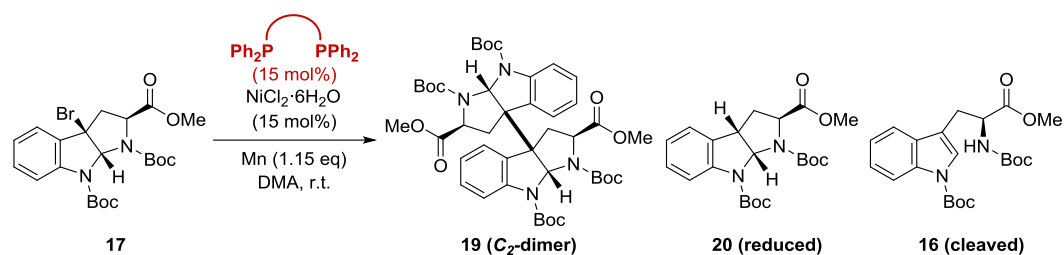


Table 2

Entry	Metal	Ligand	Solvent	19 [%] ^a (C_2 -dimer)	20 [%] ^a (reduced)	16 [%] ^a (cleaved)	17 [%] ^a (recovery)
1	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	PPh_3 ^b	DMA	11	10	19	36
2		DPPF		28	17	20	<5
3		DPPB		46	14	<5	<10
4		DPPP		56	<5	<5	<5
5		DPPE		60	17	8	0
6		DPPBz		55	19	trace	<5

^a) Isolated yields, average of two trials. ^b) 30 mol%.

溶媒が与える影響について調査した。非極性溶媒であるトルエンを用いたところ (table3, entry1)、反応自体がほとんど進行せず原料回収に終わった。テトラヒドロフラン (THF) を用いると基質は消費されたものの、**20** と **16** の副生が競合した (table3, entry2)。アセトニトリルやジメチルスルフォキシド (DMSO) を用いた場合、主生成物として **19** を 40%程度の収率で与えた (table3, entry3-4)。最後に、高極性のアミド系溶媒を検討した (table3, entry5-8)。ジメチルプロピレンウレア (DMPU) を除いて、*N*-メチルピロリドン (NMP)、ジメチルホルムアミド (DMF)、ジメチルアセトアミド (DMA) は優れた選択性で **19** を与えたことから (50-60%)、本触媒系にはアミド系溶媒が適している傾向があることがわかった。

Scheme 8 溶媒効果の検討

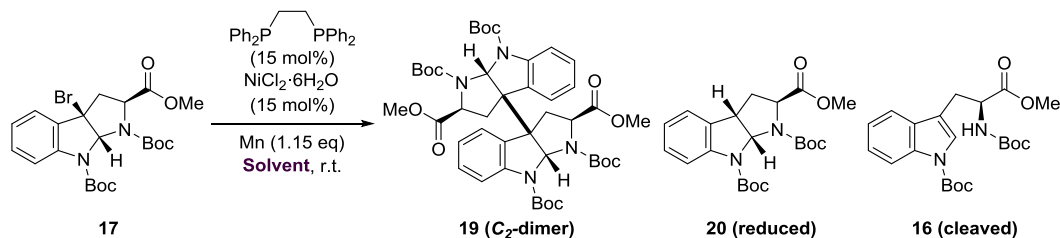


Table 3 反応に溶媒が与える影響

Entry	Metal	Ligand	Solvent	19 [%] ^a (C ₂ -dimer)	20 [%] ^a (reduced)	16 [%] ^a (cleaved)	17 [%] ^a (recovery)
1			toluene	trace	<5	trace	82
2			THF	24	23	16	0
3			CH ₃ CN	41	10	9	0
4	$\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	DPPE	DMSO	41	11	trace	<5
5			DMPU	23	31	28	0
6			NMP	51	19	14	0
7			DMF	60	5	10	0
8			DMA	60	17	8	0

a) Isolated yields, average of two trials.

最後にニッケルソースについて検討した。フッ化ニッケル(II)四水和物では原料回収に終わった (table4, entry1)。これは無水塩化ニッケルの時と同様に、金属の溶解性が著しく低いことに起因していると考えられる。臭化ニッケルの水和物は市販されていないことから、無水臭化ニッケル(II)に 6 当量の水を加えて反応を行った。二量体 **19** が主生成物として 58% の収率で得られた (table4, entry2)。同様にして無水ヨウ化ニッケル(II)と 6 当量の水を触媒として反応を行うと、**19** が主生成物として 70%の収率で得られた (table4, entry3)。tableX の entry7 との比較により、無水ニッケルハロゲン化物に水を添加した場合の収率は、塩化物塩<臭化物塩<ヨウ化物塩となり、ハロゲンの原子半径が大きくなるほど優れた活性を示すことが判明した。ヨウ化ニッケル(II)六水和物を用いた場合、検討した中で最高の 74%の収率で二量体 **19** を与えた (table4, entry4)。

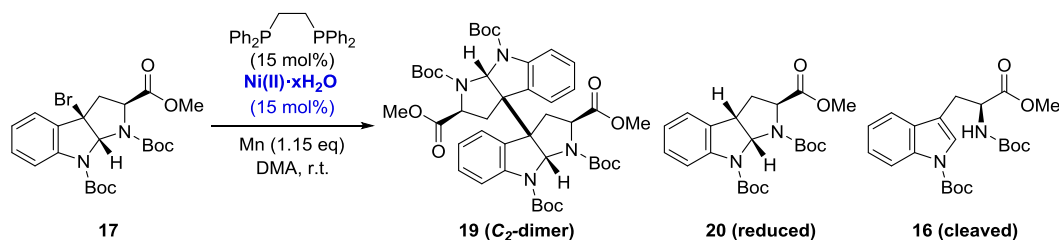


Table 4

Entry	Metal	19 [%] ^a (C_2 -dimer)	20 [%] ^a (reduced)	16 [%] ^a (cleaved)	17 [%] ^a (recovery)
1	$\text{NiF}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	trace	<5	trace	83
2	$\text{NiBr}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	58	14	<5	0
3	$\text{NiI}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	70	8	6	0
4	$\text{NiI}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	74	<5	13	0

a) Isolated yields, average of two trials.

以上の検討結果より、本二量化反応の最適条件次のように決定した。ヨウ化ニッケル(II) 六水和物を触媒として、配位子 DPPE と還元剤 Mn を、DMA 溶媒中、室温で撹拌することで、効率よく所望の二量化反応が進行することが明らかとなった。最後に、最適化された反応条件下、触媒量の低減が反応に与える影響を調査した (Table5)。触媒量を減らすほど反応時間を長くする必要があり、収率のわずかな低下がみられた。しかし、わずか 2.5 mol% の触媒量でも二量化収率が 60% を超えており、これは基質 *ent*-**17** を 1.3 当量の $\text{CoCl(PPh}_3)_3$ で処理した場合の二量化収率は 54% であったとする de Lera らの報告²² よりも優れた変換効率といえる。

Scheme 9

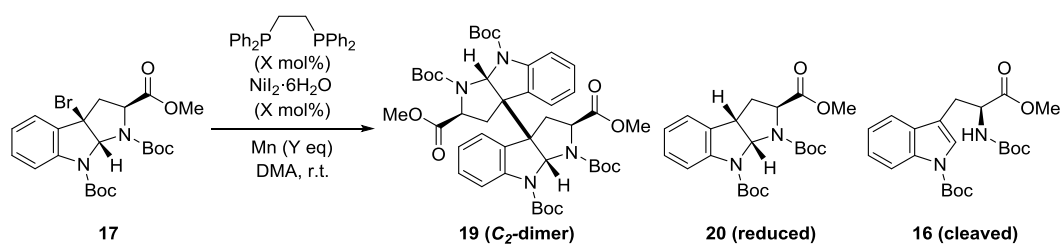


Table 5

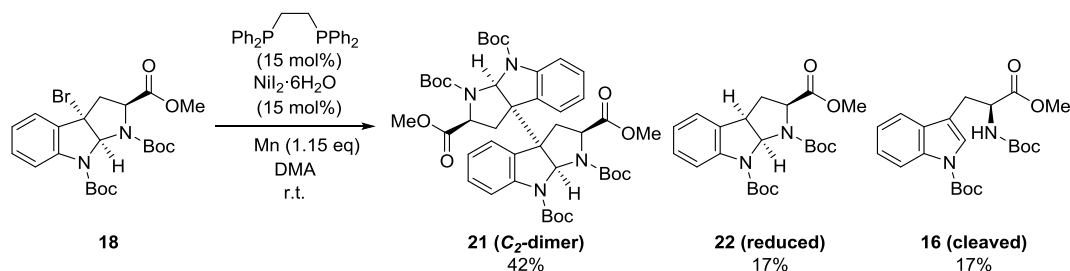
Entry	Ni, DPPE X [mol%]	Mn Y [eq.]	Time [h]	19 [%] ^a (C_2 -dimer)	20 [%] ^a (red.)	16 [%] ^a (cleav.)	17 [%] ^a (recov.)
1	15	1.15	12	74	trace	13	0
2	4	1.1	14.5	67	11	3	0
3	2.5	1.05	24	63	17	<5	0

a) Isolated yields, average of two trials.

2-7 基質適用範囲の検討

触媒的二量化反応の最適化条件を確立できたので、先の検討に用いた基質のジアステレオマーである *endo* 配向カルボニル基を有する臭化物 **18** の二量化を試みた (Scheme X)。残念なことに、2 種類の単量体 **22**、**16** の副生が増加し、二量化収率が大きく低下した (**21** : 42%)。また、*exo* 配向型基質 **17** に比べて反応完結までに要する時間が長くなった (*exo* 配向型 **17** : 5-7 h、*endo* 配向型 **18** : 12 h)。

Scheme 10 *endo* 配向型基質を用いた二量化反応



両ジアステレオマーの反応性の違いについて立体化学の違いから考察した。短時間で収率良く二量化が進行する *exo* 配向型 **17** は、臭素とカルボニル基が *syn* の関係にある。カルボニル酸素へニッケルが配位すると、反応点である臭素にニッケルが効率よく接近することが可能となると予想される。即ち、カルボニル酸素への配位が酸化的付加を促進する可能性が考えられる。一方、*endo* 配向型 **18** は、臭素とカルボニル基が *anti* の関係にある。この系では、カルボニル酸素へのニッケルの配位が酸化的付加を促進する要素になるとは考えにくい。したがって、先の場合とは逆に、カルボニル酸素への配位が酸化的付加を阻害していると考えられる。カルボニル基の配向が違う二種類のジアステレオマーの二量化反応では、両者の収率に大きな違いがあるもののいずれも触媒的に反応が進行している。従って、本触媒系はカルボニル基を持たないトリプタミン誘導体にも適用できるのではないかと考えた。

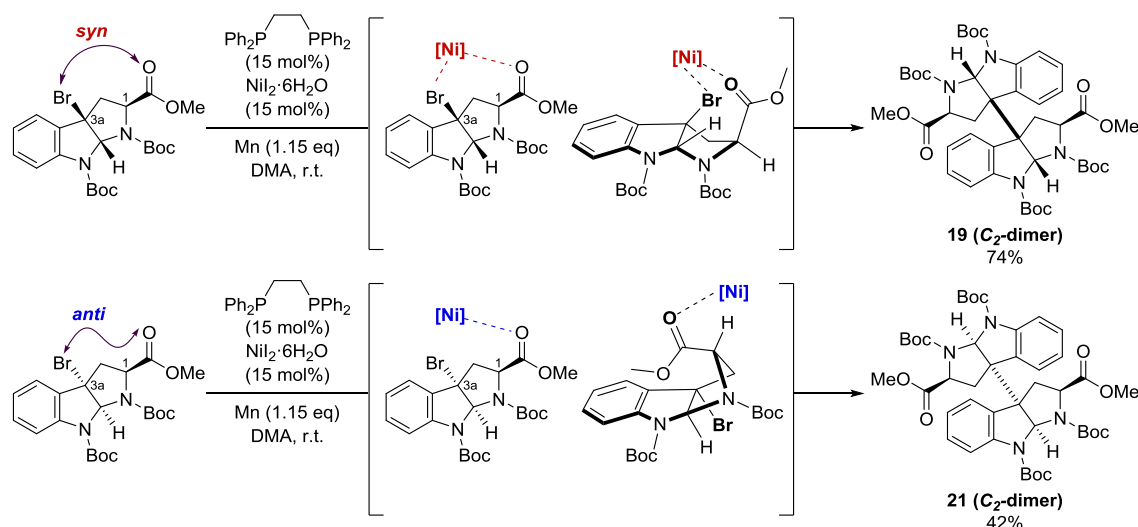
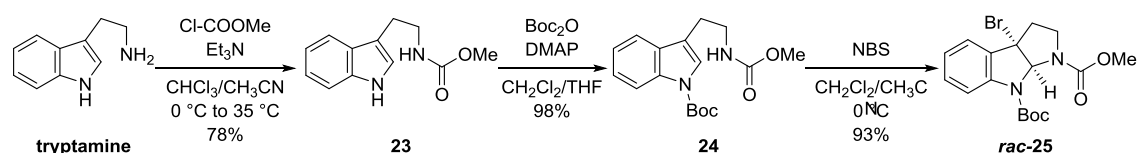


Figure 13 立体化学が酸化的付加に与える影響

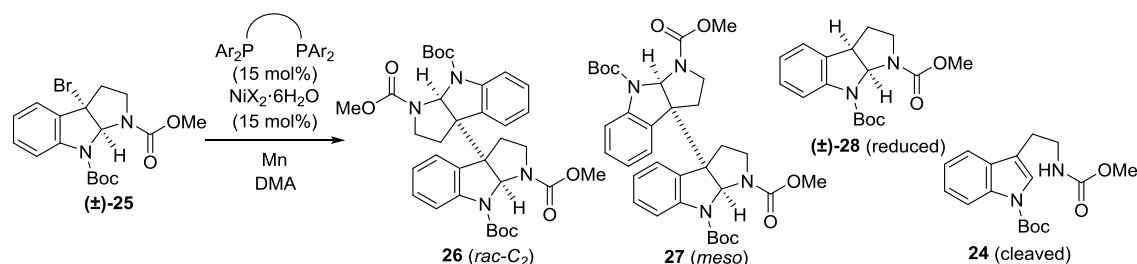
トリプタミン誘導体の二量化を検討すべく、二量化前駆体を合成をした (Scheme 11)。トリプタミンをクロロホルムとアセトニトリル混合物に溶解させ、クロロギ酸メチルで処理して 78%の収率でメチルカルバメート **23** を得た。触媒として DMAP を添加して **23** を Boc_2O で処理することで、98%の収率でインドール窒素に Boc 基が連結した **24** へと変換した。これを NBS と共に撹拌すると環化臭素化反応が進行し、ラセミ体の臭化物 **25** が 93%の収率で得られた。

Scheme 11 トリプタミン誘導体の合成



トリプタミン誘導体の二量化反応に取り組んだ。まずはトリプトファン誘導体での最適条件を適用した。反応は 12 時間で完結せず、35%の原料回収となった。目的物である *rac-C₂* *meso* 二量体 **26/27** は得られたものの、その合計収率は 15%程度と低かった。この条件で優先して生成したのは還元体 **28** (11%) と開環した単量体 **24** (9%) であった。還元剤であるマンガンの量を 1.5 当量を増やして反応時間を 17 時間としたところ反応は完結した。*rac-C₂* *meso* 二量体 **26/27** はそれぞれ 13/18%収率で得られ、副生成物の収率は **28** が 17%、**24** が 15%であった。副生成物の抑制を目的として配位子を再検討し、DPPBz が適していることが判明した。15 mol%のヨウ化ニッケル(II)六水和物と DPPBz、1.5 当量のマンガンで基質を処理したところ、単量体の生成を抑制することに成功し (**28** : 11%、**24** : 12%)、わずかではあるが二量化収率が向上した (*C₂* **26** : 17%、*meso* **27** : 20%)。こま

での検討において、HPLC 分析と TLC 分析から、反応系が複雑化していることが判明した。そこで、原料・生成物の分解や副反応を避けるために反応を低温で行うこととした。反応時間を 19 時間へと延長しても痕跡量の未反応基質が残るものの、二量化収率の向上 (C_2 **26** : 18%、*meso*-**27** : 22%) と環開裂を伴う副反応の抑制 (**24** : 8%) に成功した。しかしながら、これでもなお反応生成物の複雑化が観測されたことから、塩化ニッケル(II)六水和物を金属触媒として使用して分解を抑制しようと考えた。塩化ニッケル(II)六水和物を触媒として 4 °C で反応を行った場合、反応完結までに 20 時間程度を要した。痕跡量の原料が残るものの、二量体の合計収率が向上した (C_2 **26** : 25%、*meso*-**27** : 30%)。HPLC 並びに TLC を用いた分析では、**28** と **24** 以外のマイナーな副生成物の生成が減少したことが見て取れ、分解のパスが減ったことが収率向上に寄与していると予想される。続いて、京都大学の中村正治教授より御恵与いただいた DPPBz 型配位子 SciOPP と TMS-SciOPP³⁵を用いて更なる二量化収率向上を目指した。興味深いことに、これらの配位子を用いた場合には反応は室温付近よりも加熱をした方が優れた結果を与えた。この現象は、配位子のかさ高さにより生じていると考えられる。



Entry	Ni(II)	Ligand	Temp. [°C]	Time [h]	26 [%] ^b <i>rac</i> - C_2	27 [%] ^b <i>meso</i>	28 [%] red.	24 [%] cleav.	25 [%] recov.
1 ^{a,c}	$NiI_2 \cdot 6H_2O$	DPPE	r.t.	12	8	8	11	9	35
2 ^c				17	13	18	17	15	0
3 ^c		DPPBz	4	17	17	20	11	12	0
4 ^c				19	18	22	11	8	trace
5 ^c	$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	DPPBz	4	20	25	30	11	7	trace
6 ^d	$NiCl_2 \cdot 6H_2O$	SciOPP	25	25	16	22	23 ^b	7 ^b	-
7 ^d			40	24	16	20	40 ^b	2 ^b	-
8 ^d		TMS-	40	19	9	17	25 ^b	10 ^b	3 ^b
9 ^d		SciOPP	60	12	15	20	29 ^b	6 ^b	-

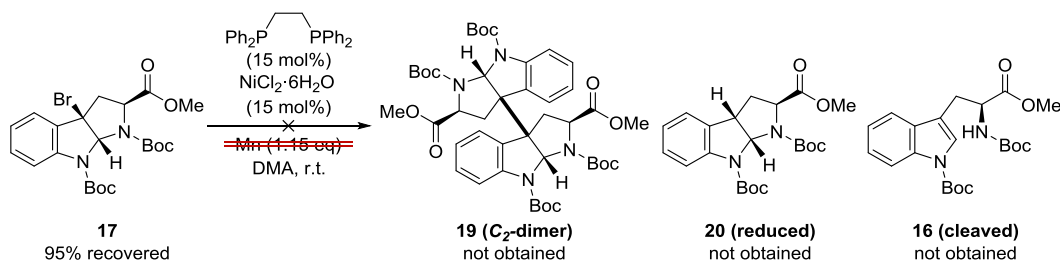
6 節と 7 節をまとめると、我々は二価ニッケル水和物とジホスフィン配位子を用いたピロリジノインドリンの触媒的二量化を実現した。試薬の組み合わせを最適化することで、トリプトファン/トリプタミン両誘導体に適用可能であることを実証した。

2-8 反応機構推察に関する実験

ニッケル触媒を用いたピロリジノインドリンの二量化反応について反応機構を推察するための実験に取り組んだ。

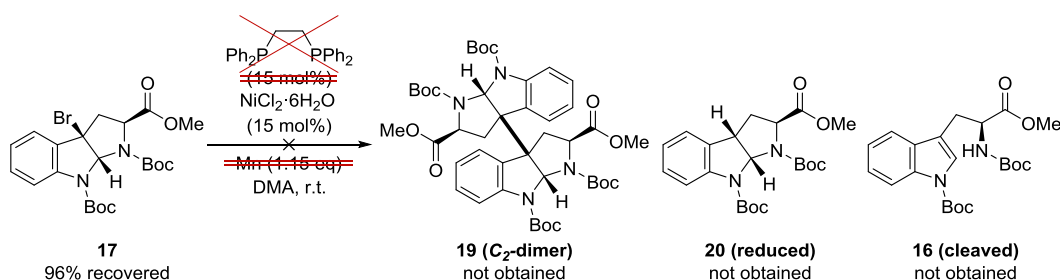
各種試薬を加えずに反応を行うコントロール実験を行った。還元剤マンガンを加えず、塩化ニッケル(II)六水和物と DPPE で臭化物 **17** を処理した場合、反応は全く進行せずに精製後に 95%の収率で原料が回収された (Scheme X)。これより、マンガンは反応開始段階に必須であることが推察された。同義ではあるが、ニッケルとホスフィンを混ぜただけでは活性種が発生しないこと、臭化物への酸化的付加が起こらないことが強く示唆された。

Scheme 12 マンガンを加えないコントロール実験



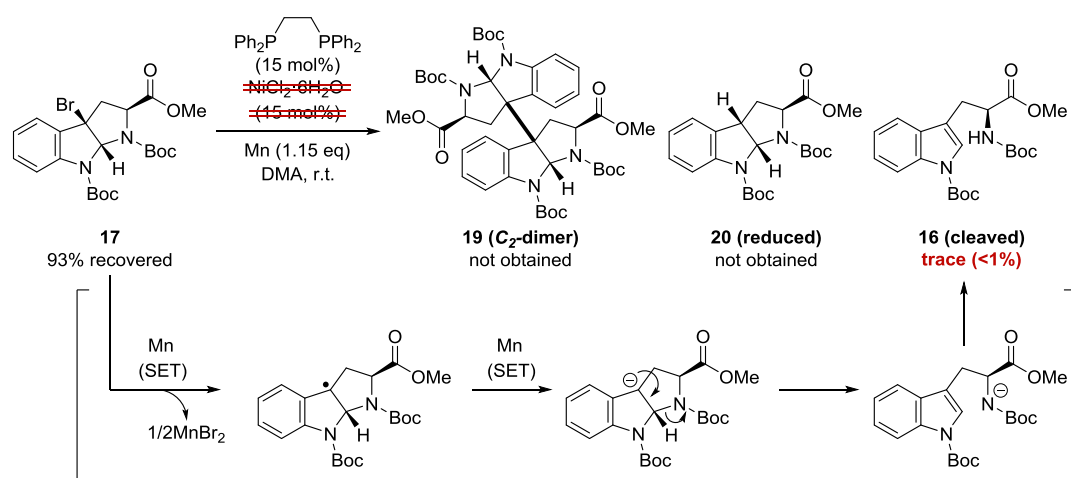
マンガンと配位子を除いて、塩化ニッケル(II)六水和物のみで基質を処理した場合も同様の結果で、ほぼ定量的に (96%) 原料が回収された。ニッケル単独でも酸化的付加が起こらないことが確認された。

Scheme 13



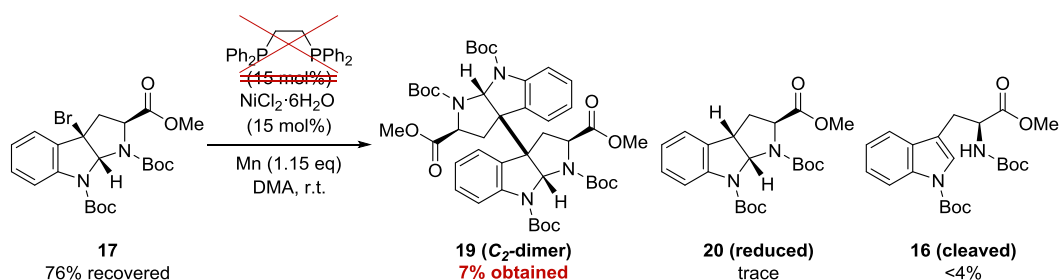
ニッケルを加えずに反応を行ったところ、ほとんど反応が進行せずに 93%の収率で原料が回収された。興味深いことに、TLC でかすかに検出できる程度の量で環開裂をした単量体 **16** が得られたことが判明した。詳細な機構は不明であるが、マンガン単独、もしくはマンガンとジホスフィンの活性種は一電子移動によりピロリジノインドリン型基質 **17** から臭素を引き抜き、開環させる可能性があることが強く示唆された。マンガンとホスフィンの相互作用の有無は、基質をマンガンだけで処理した実験を行っていないので判断できない。また、この実験と 6 節の金属触媒探索の実験より、二量体を与える活性種はニッケルであることが強く示唆された。

Scheme 14



最後に、配位子 DPPE を加えず、塩化ニッケル(II)六水和物と還元剤マンガンで基質を処理した。70%以上が原料回収となったが、3.7%と低収率ながら所望の二量体 **X** が得られた。Scheme X に記したマンガンを加えないコントロール実験と合わせて、反応の開始にはマンガンが必須であることが確実になったと考えられる。また、ホスフィン配位子は「触媒サイクルの回転」に必須であることが強く示唆された一方で、二量体を与えるためにはニッケルと還元剤だけでも良いことが示唆される結果と考えられる。

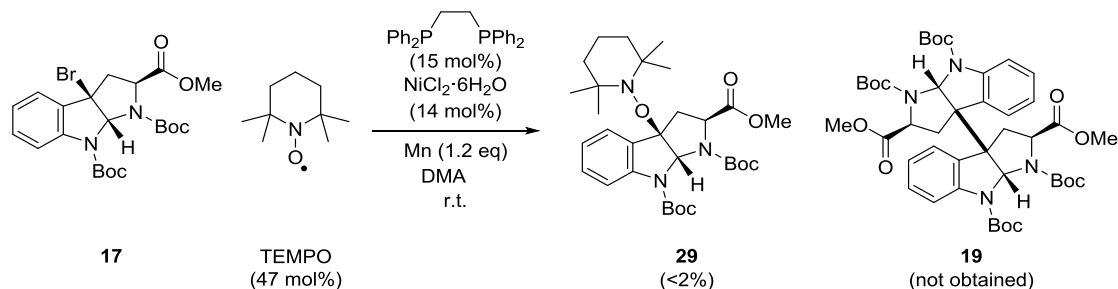
Scheme 15



以上のコントロール実験より、我々が見出した触媒系にはすべての試薬が必須であることが確認された。特に、1) 二量体を与える活性種はニッケルであり、それがマンガンで処理することで（還元により）生じること、2) サイクルの回転にホスフィン配位子が必須であること、とそれぞれの試薬の役割を推定した。

つづいて、本反応がラジカル的な機構で進行していることを検証すべく、反応系に **TEMPO** を加えて反応を行った。一般的に、反応がラジカル的に進行している場合は **TEMPO** の添加によって反応が進行しなくなったり、場合によっては **TEMPO** の付加体が得られたりすることが知られている。ニッケルに対して 3 当量の **TEMPO** を添加して反応を行ったところ、二量化反応は起こらず 91%の原料が回収された。加えて、約 2%の収率で **TEMPO** の付加体 **29** が得られた。付加体の収率は極めて低い、本反応がラジカル的なメカニズムで進行している可能性が高まった。

Scheme 16 **TEMPO** 添加による反応阻害実験

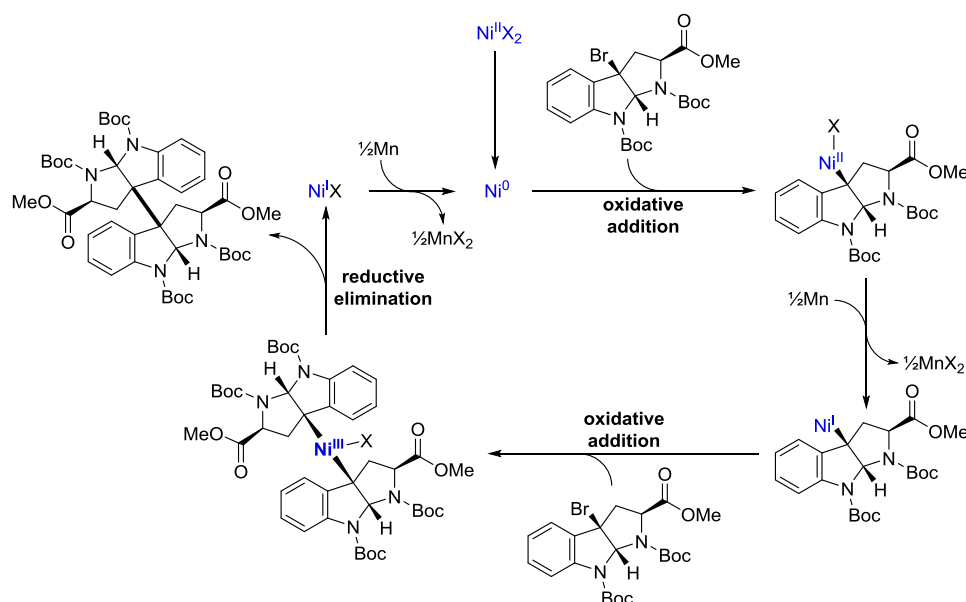


また、本反応を大気開放系で行ったところ、ほとんど反応が進行しなくなった。本反応は水に対してはあまり影響を受けないことから、空気中の酸素が影響したと考えられる。ただし、マンガンを用いた還元を酸素が阻害したか、反応活性種と酸素との反応か、マンガンの空気酸化のいずれかが原因であると予想される。我々が参考にした Weix らの反応条件では大気開放系で反応を行っても反応が進行することと比較すると、反応機構自体が大きく異なるか、反応活性種の安定性に大きな違いがありそうなが予想される。

ここまでの検討結果を受け、我々が見出した触媒的二量化反応のメカニズムを以下のように推察した。触媒サイクルの起点はニッケルの 2 価から 0 価への還元であると予想した。マンガンを加えない場合は反応が進行しないという実験事実より、この還元にはマンガンの一電子移動が関与していると考えられる。

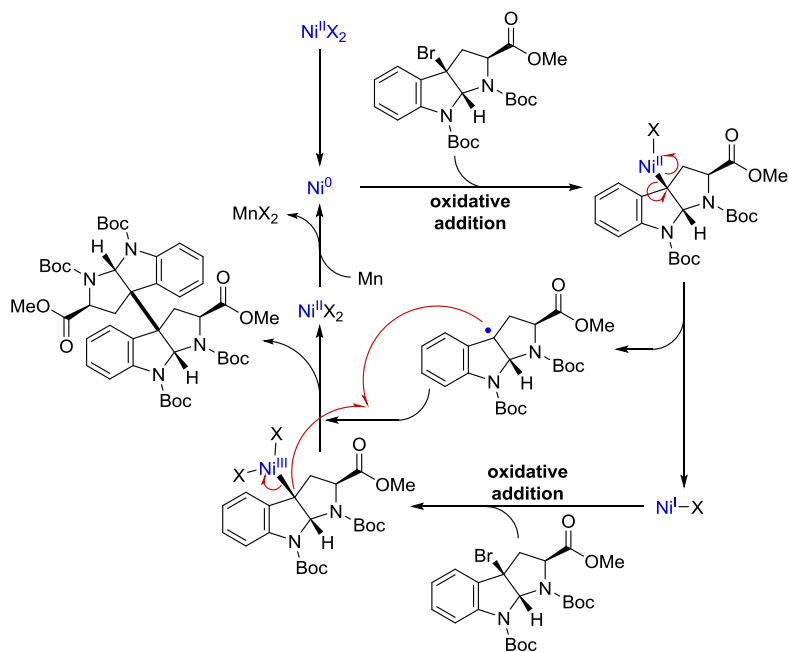
反応機構①では、0 価のニッケルはピロリジノインドリン臭化物に酸化的付加をすることで、ベンジル位にニッケルが置換された中間体が生成する。マンガンが一電子還元を起こしながら Ni-X 結合を開裂させて、ピロリジノインドリンに 1 価のニッケルが連結した中間体となる。これにもう一分子のピロリジノインドリン臭化物が酸化的付加をして、2 分子のピロリジノインドリンが 3 価のニッケルで架橋された中間体を与える。還元的脱離によりピロリジノインドリン二量体を放出しながら 1 価のニッケルとなり、マンガンが再度一電子還元を起こしながら Ni-X 結合を開裂させて 0 価のニッケルを再生するメカニズムである。

Scheme 17 推定触媒反応サイクル①



反応機構②も 0 価のニッケルが生じてこれがピロリジノインドリンに酸化的付加をすることまでは共通している。この 2 価のピロリジノインドリンは C-Ni 結合が均等開裂することでピロリジノインドリンラジカルと 1 価のニッケルを生じる。1 価のニッケルはもう一分子のピロリジノインドリン臭化物に酸化的付加をして 3 価のニッケルとなる。再度 C-Ni 結合が均等開裂して先ほど生じたピロリジノインドリンラジカルと反応することで二量体が生成する。放出された 2 価のニッケルはマンガンの一電子還元を連続して 2 回受けることで 0 価のニッケルを再生することでサイクルが成立する。

Scheme 18 推定触媒反応サイクル②



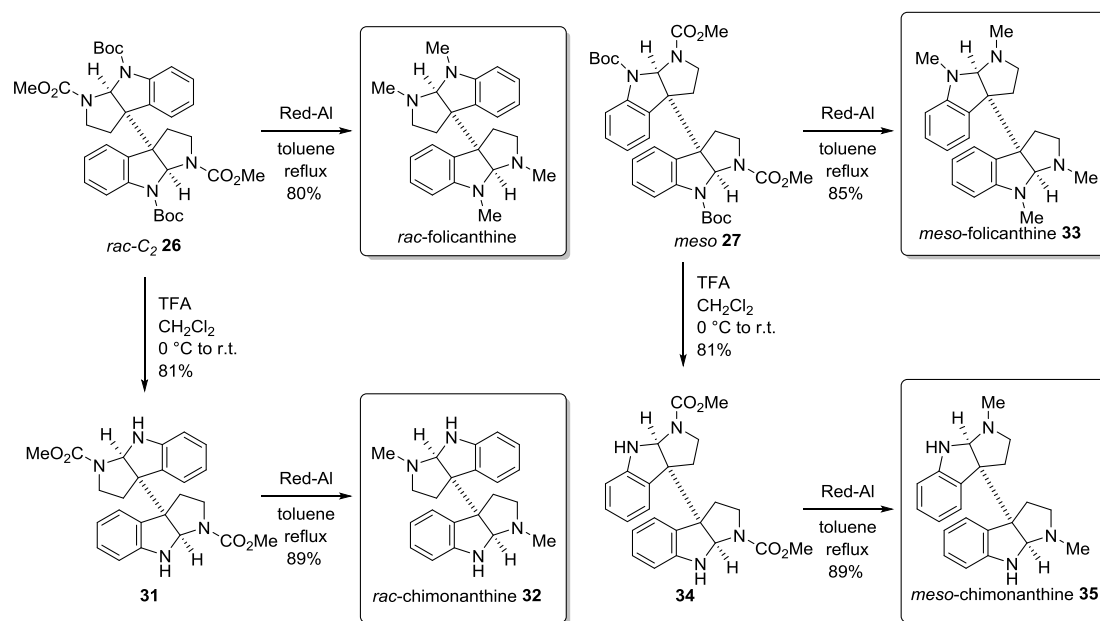
2-9 天然物 folicanthine と chimonanthine の全合成

得られたトリプタミン二量体の立体化学を決定することを兼ねて、天然物 folicanthine と chimonanthine への化学変換を検討した。

高極性側の二量体 **26** をトルエンに溶解させて水素化ビス(2-メトキシエトキシ)アルミニウムナトリウム (Red-Al) を加えて加熱還流したところ、4つの窒素保護基が全てメチル基へと還元されて folicanthine が得られた。各種スペクトルデータが C_2 対称天然物 folicanthine **30** のものと一致したことから、**26** が C_2 対称二量体であることが強く示唆された。また、**26** をジクロロメタン中、トリフルオロ酢酸 (TFA) で処理したところ、Boc 基が除去されたジアニリン **31** が得られた。この **31** も文献既知化合物であり、我々の合成品の各種スペクトルデータが文献値と一致した³⁶。以上より **26** が C_2 対称二量体であると確定した。ジアニリン **31** をトルエン中、水素化ビス Red-Al を加えて加熱還流して C_2 chimonanthine (**32**) へと変換した。

続いて、低極性側の二量体 **27** が *meso* 対称であることを確認すべく、ジアニリン、folicanthine、chimonanthine へと変換に取り組んだ。**27** をトルエンに溶解させて水素化ビス(2-メトキシエトキシ)アルミニウムナトリウム (Red-Al) を加えて加熱還流したところ、 C_2 対称二量体の時と同様に *meso*-folicanthine (**33**) が得られた。各種スペクトルデータが文献値³⁷と一致したことから二量体の *meso* 対称性が支持された。TFA 処理による Boc 基の除去で生成したジアニリン **34** に加え、それを水素化ビス(2-メトキシエトキシ)アルミニウムナトリウム (Red-Al) により還元した *meso*-chimonanthine (**35**) の各種スペクトルデータがそれぞれ文献既知の *meso* 対称化合物と合致した³⁸。

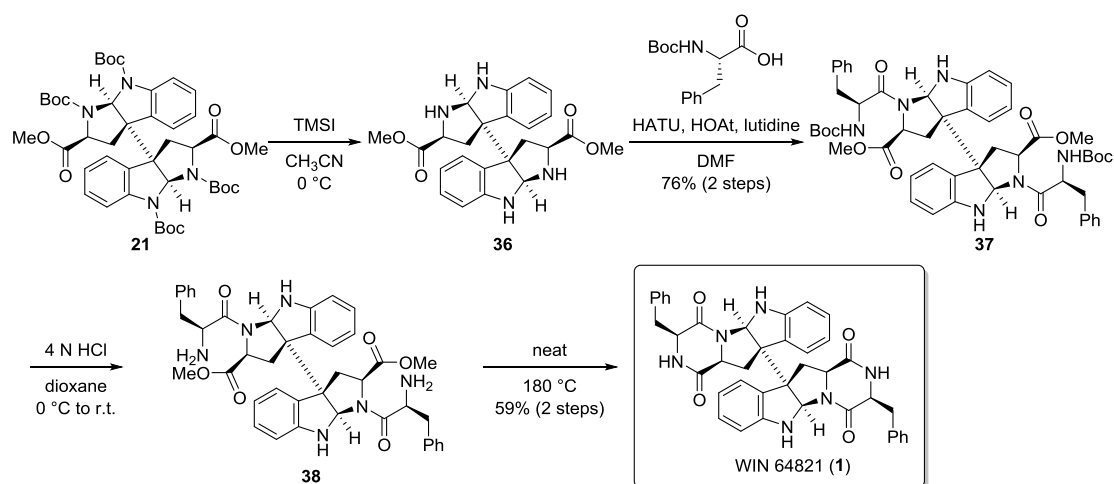
Scheme 19 folicanthine 類、chimonanthine 類の全合成



2-10 WIN 64821 の合成

endo 配向二量体 **21** を天然物 WIN 64821 (**1**) へと変換した。**21** をアセトニトリルに溶解させ、0 °C を保ちながら TMSI で処理すると、4 つの Boc 基が除去されたテトラアミン **36** が得られた。**36** は水溶性と極性が高いことから、クエンチ後は抽出を念入りに行い、飽和食塩水による洗浄と精製を行わず、粗生成物を続くアミノ酸連結反応に使用した。粗生成物の H-NMR を測定し、目的物 **36** が選択的に生成していることを確認したのち、縮合剤 HATU を用いて *N*-Boc フェニルアラニンを連結した。縮合は 2 級アミンで位置選択的に進行し、Boc 基の除去から 2 段階で 76% の収率でジペプチド **37** が得られた。塩酸処理によって **37** の Boc 基を除去してから中和し、生成したアミンをそのまま無溶媒条件で 180 °C で加熱してジケトピペラジンを形成した。**37** より 2 段階 59% の収率で **1** の全合成を達成した²⁵。

Scheme 20 WIN 64821 の全合成



2-11 結論

我々は、ニッケル触媒を用いたピロリジノインドリンスキャッフオールドの触媒的二量化を達成した。一般に、3 級アルキルハライドはかさ高さから反応が起こらないリスクや、β ヒドリド脱離のリスクを伴う基質である。本章では、3 級アルキルハライドの新規触媒的二量化条件を発見することができた。試薬の組み合わせを調整することでトリプトファン誘導体とトリプタミン誘導体のどちらにも使用することができる点に我々が開発した反応の強みがある。天然物合成に適用可能な複雑な基質の二量化を実現し、トリプトファンとトリプタミンからそれぞれ生合成される天然物 WIN 64821 と folicanthine, chimonanthine の短段階合成を達成した。

-
- ¹ Voloshchuk, T.; Farina, N. S.; Wauchope, O. R.; Kiprowska, M.; Haberfield, P.; Greer, A. *J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1141.
- ² Lian, G.; Yu, B. *Chem. Biodivers.* 2010, *7*, 2660.
- ³ a) Takeda, Y.; Yamashita, H.; Matsumoto, T.; Terao, H. *Phytochemistry*, **1993**, *33*, 713.
b) Okamura, H.; Iwagawa, T.; Nakatani, M. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1995**, *68*, 3465.
- ⁴ Tanaka, N.; Okasaka, M.; Ishimaru, Y.; Takaishi, Y.; Sato, M.; Okamoto, M.; Oshikawa, T.; Ahmed, S. U.; Consentino, L. M.; Lee, K.-H. *Org. Lett.* **2005**, *7*, 2997.
- ⁵ Nicolaou, K. C.; Sanchini, S.; Sarlah, D.; Lu, G.; Wu, T. R.; Nomura, D.K.; Cravatt, B. F.; Cubitt, B.; de la Torre, J.C.; Hessell, A. J.; Burton, D. R. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. **2011**, *108*, 6715.
- ⁶ Pereira, A. R.; McCue, C. F.; Gerwick, W. H. *J. Nat. Prod.* **2010**, *73*, 217.
- ⁷ Lee, S.; LaCour, T. G.; Fuchs, P. L. *Chem. Rev.* **2009**, *109*, 2275.
- ⁸ Ishikawa, H.; Colby, D. A.; Seto, S.; Va, P.; Tam, A.; Kakei, H.; Rayl, T. J.; Hwang, I.; Boger, D. L. *J. Am. Chem. Soc.* **2009**, *131*, 4904.
- ⁹ Wu, Q.-X.; Yang, A.-M.; Shi, Y.-P. *Tetrahedron* **2005**, *61*, 10529.
- ¹⁰ Wurtz, A. *Ann. Chim. Phys.* **1855**, *44*, 275.
- ¹¹ Ullmann, F.; Bielecki, J. *Chem. Ber.* **1901**, *34*, 2174.
- ¹² a) Yamada, Y.; Momose, D. *Chem. Lett.* **1981**, 1277. b) Momose, D.; Iguchi, Z.; Sugiyama, T.; Yamada, Y. 1984, *Chem. Pharm. Bull.* **1984**, *32*, 1840.
- ¹³ Iyoda, M.; Sakitani, M.; Otsuka, H.; Oda, M. *Chem. Lett.* **1985**, 127.
- ¹⁴ a) Ginah, F. O.; Donovan, Jr., T. A.; Suchan, S. D.; Pfenning, D. R.; Ebert, G. W.; *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 584. b) Ma, J.; Chan, T.-H. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 2499. c) Liu, J.; Li, B. *Synth. Commun.* **2007**, *37*, 3273.
- ¹⁵ a) Hill, D. L.; Parves, M. A.; Sen, A. *J. Am. Chem. Soc.* **1994**, *116*, 2889. b) Xu, X.; Cheng, D.; Pei, W. *J. Org. Chem.* **2006**, *71*, 6637.
- ¹⁶ Ranu, B. C.; Dutta, P.; Sarkar, A. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9557.
- ¹⁷ Nishino, T.; Watanabe, T.; Okada, M.; Nishiyama, Y.; Sonoda, N. *J. Org. Chem.* **2002**, *67*, 966.
- ¹⁸ de Sá, A. C. P. F.; Pontes, G. M. A.; dos Anjos, J. A. L.; Santana, S. R.; Bieber, L. W.; Malvestiti, I. *J. Braz. Chem. Soc.* **2003**, *14*, 429.
- ¹⁹ Huther, N.; McGrail, P. T.; Parsons, A. F. *Eur. J. Org. Chem.* **2004**, 1740.
- ²⁰ Barreao, A. F.; Herrador, M. M.; Quílez del Moral, J. F.; Arteaga, P.; Akssira, M.; Hanbali, F. E.; Arteaga, J. F.; Diéguez, H. R.; Sánchez, E. M. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 2251.
- ²¹ a) Bagal, S. K.; Adlington, R. M.; Baldwin, J. E.; Marquez, R.; Cowley, A. *Org. Lett.* **2003**, *5*, 3049. b) Bagal, S. K.; Adlington, R. M.; Baldwin, J. E.; Marquez, R. *J. Org. Chem.* **2004**, *69*, 9100.)
- ²² Bagal, S. K.; Adlington, R. M.; Marquez, R.; Cowley, A. R.; Baldwin, J. E. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 4993.
- ²³ Movassaghi, M.; Schmidt, M. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3725.
- ²⁴ a) de Lera, Á. R.; Pérez-Balado, C. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3701. b) Pérez-Balado, C.; Rodríguez-Graña, P.; de Lera, Á. R. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9928.
- ²⁵ a) Movassaghi, M.; Schmidt, M. A.; Ashenurst, J. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1485. b) Kim, J.; Ashenurst, J. A.; Movassaghi, M. *Science* **2009**, *324*, 238. c) Kim, J.; Movassaghi, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 14376.
- ²⁶ a) Iwasa, E.; Hamashima, Y.; Fujishiro, S.; Higuchi, E.; Ito, A.; Yoshida, M.; Sodeoka, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 4078. b) Iwasa, E.; Hamashima, Y.; Fujishiro, S.; Hashizume, D.; Sodeoka, M. *Tetrahedron* **2011**, *67*, 6587. c) Sodeoka, M.; Dodo, K.; Teng, Y.; Iuchi, K.; Hamashima, Y.; Iwasa, E.; Fujishiro, S. *Pure Appl. Chem.* **2012**, *84*, 1369)

-
- ²⁷ Barrow, C. J.; Cai, P.; Synder, J. K.; Sedlok, D. M.; Sun, H. H.; Cooper, R. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6016.
- ²⁸ Popp, J. L.; Musza, L. L.; Barrow, C. L.; Rudewicz, P. J.; Houck, D. R. *J. Antibiot.* **1994**, *47*, 411
- ²⁹ Barrow, C. J.; Musza, L. L.; Cooper, R. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **1995**, *5*, 377.
- ³⁰ Hagiwara, D. *J. Synth. Org. Chem. Jpn.* **1994**, *52*, 445.
- ³¹ 平本昌志、宮田祐、柴崎充至、斎田裕治 天然有機化合物討論会要旨集 P-23 **1994**, *36*, 557.
- ³² a) López, C. S.; Pérez-Balado, C.; Rodríguez-Graña, P.; de Lera, Á. R. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 77. b) Ruiz-Sanchis, P.; Savina, S. A.; Albericio, F.; Álvarez, M. *Chem. Eur. J.* **2011**, *17*, 1388.
- ³³ Michael, R.; Prinsell, M. R.; Everson, D. A.; Weix, D. J. *Chem. Commun.* **2010**, *46*, 5743.
- ³⁴ Hatakeyama, T.; Hashimoto, H.; Kondo, Y.; Fujiwara, Y.; Seike, H.; Takaya, H.; Tamada, H.; Ono, T.; Nakamura, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2010**, *132*, 10674. Hatakeyama, T.; Okada, Y.; Yoshimoto, Y.; Nakamura, M. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2011**, *50*, 10973.
- ³⁵ a) Hatakeyama, T.; Hashimoto, T.; Kondo, Y.; Fujiwara, Y.; Seike, H.; Takaya, H.; Tamada, Y.; Ono, T.; Nakamura, M.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 10674.; b) Hatakeyama, T.; Okada, Y.; Yoshimoto, Y.; Nakamura, M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 10973.; c) Jin, M.; Nakamura, M. *Chem. Lett.*, **2011**, *40*, 1012.; d) Hatakeyama, T.; Fujiwara, Y.; Okada, Y.; Itoh, T.; Hashimoto, T.; Kawamura, S.; Ogata, K.; Takaya, H.; Nakamura, M. *Chem. Lett.*, **2011**, *40*, 1030.; e) Hashimoto, T.; Hatakeyama T.; Nakamura, M. *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 1168.; f) Kawamura, S.; Nakamura, M. *Chem. Lett.*, **2013**, *42*, 183-185.
- ³⁶ Mitsunuma, H.; Shibasaki, M.; Kanai M.; Matsunaga, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 5217.
- ³⁷ a) Matsuda, Y.; Kitajima M.; Takayama, H. *Heterocycles*, **2005**, *65*, 1031. b) 松田洋平 千葉大学大学院薬学研究院 博士論文 **2008**
- ³⁸ Snell, R. H.; Woodward R. L.; Willis, M. C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 9116.

第3章 立体化学を指標とした構造活性相関

3-1 WIN 64821 アナログの系統的合成

前章において、ニッケル触媒による簡便かつ効率的なビスピロリジノインドリンの構築を実現し、天然物 WIN 64821 (**1**)の全合成を達成した。そこで、**1**の立体化学を系統的に改変したアナログ群を合成し、**1**と共にアッセイすることで有望な活性を示す化合物をスクリーニングし、活性発現に必要な構造要因を特定する計画を立てた。

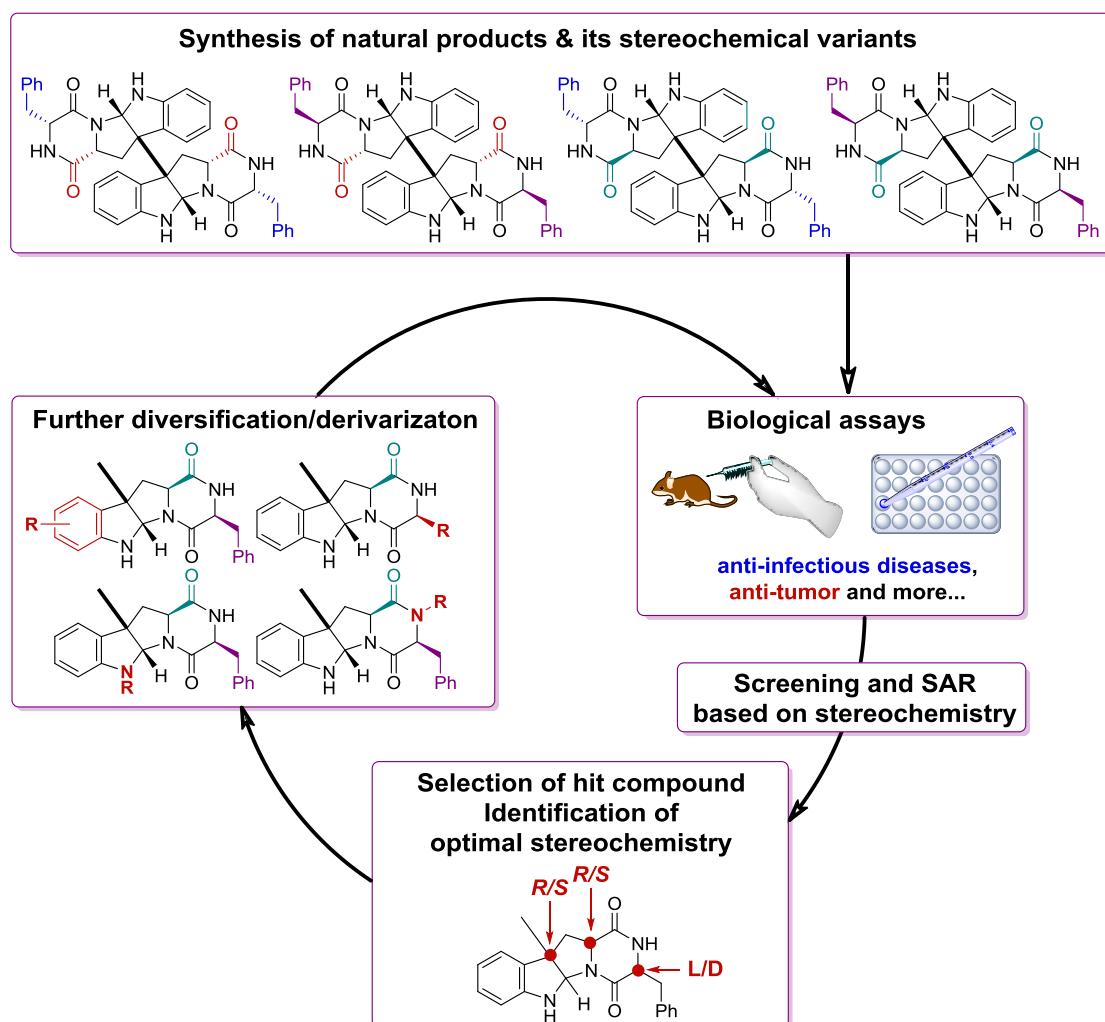
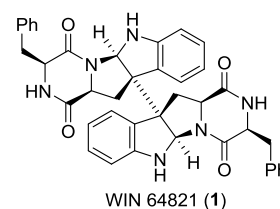
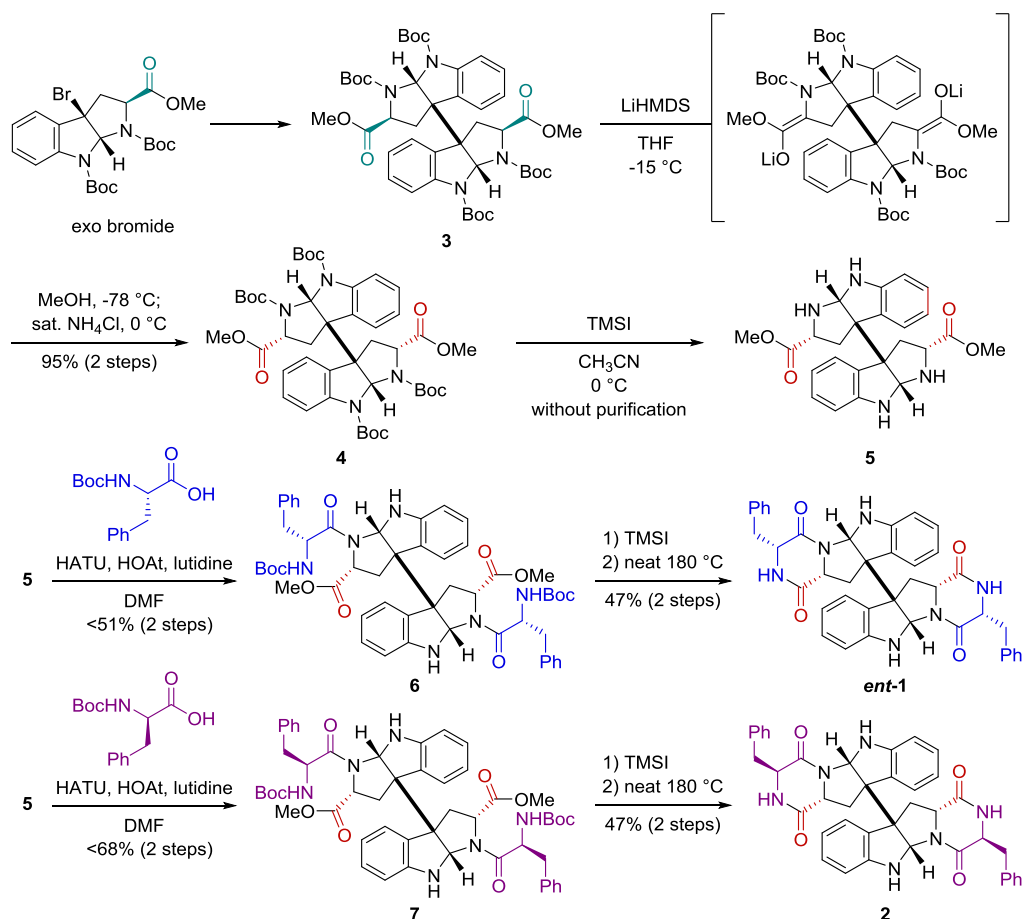


Figure 1 天然物の骨格多様化合成と構造活性相関研究による生理活性分子の探索

exo 型の単量体をヨウ化ニッケル(II)六水和物を触媒として二量化させ、 C_2 対称二量体 **3** を 3-5 グラム程度のスケールで合成した。隣接四級炭素の立体化学は WIN 64821 (**1**) のものと逆である。まず、**1** のエナンチオマー *ent*-**1** とそのアミノ酸を置換したアナログ **3** の合成に取り掛かった。de Lera らの報告¹に従い、LiHMDS を用いてビスエノラートを生成させたのちにプロトン化を行うことで 11,11' 位の立体化学を反転させて *endo* 配向二量体 **4** を得た。TMSI 処理によって 4 つの Boc 基を除去してテトラアミン **5** とした。極性が高いことを考慮し、粗生成物のまま次の反応に用いることとした。縮合剤 HATU を用いて **5** に *N*-Boc-D フェニルアラニンを連結させ、ジペプチド **6** を得た。酸処理による Boc 基の除去で 1 級ジアミンとし、これをニートで加熱することでジケトピペラジン環形成を行い非天然型天然物 *ent*-**1** の全合成を達成した。同様の手法で **5** に *N*-Boc-L フェニルアラニンを連結したジペプチド中間体 **7** を経て天然物アナログ **2** を得た(Scheme 1)。

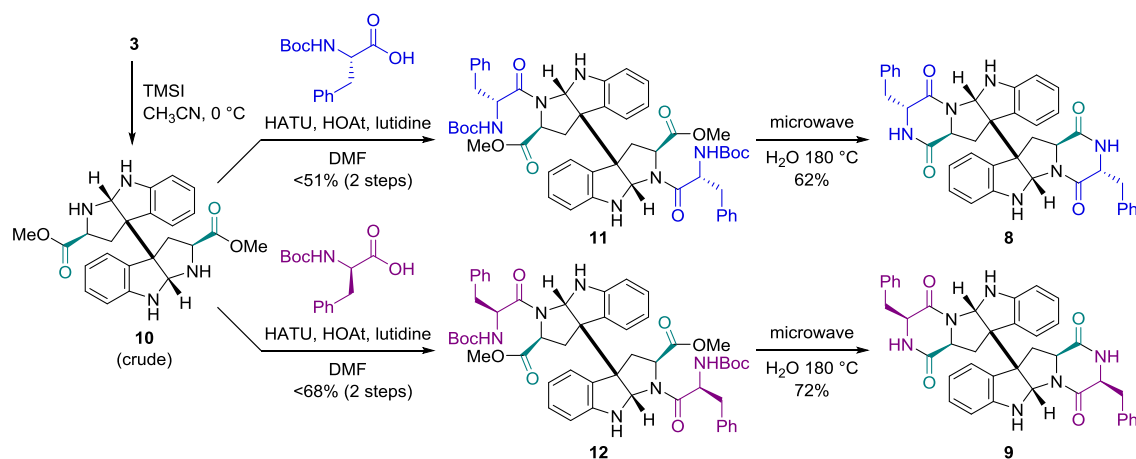
Scheme 1 *ent*-WIN 64821 (*ent*-**1**)とアミノ酸を置換したアナログの合成



exo 型のモノマー**2** をエピ化させずにテトラアミンとし、アミノ酸を連結してジケトピペラジンを形成させることで *exo* 配向の天然物アナログ **8** と **9** を合成しようと計画した (Scheme 2)。**3** の TMSI 処理によってテトラアミン **10** とした。先と同様、**10** は粗生成物のま

ま次の反応に使用した。フェニルアラニンの連結反応はカルボニル基の立体化学に依存せず効率的に進行し、**10** に *N*-Boc-D フェニルアラニンを連結したジペプチド **11**、*N*-Boc-L フェニルアラニンを連結したジペプチド **12** をそれぞれ得ることができた。興味深いことに、ジケトピペラジン形成反応は立体化学の違いによる差異があることが判明した。Scheme 1 に示した *endo* 配向二量体 **6**、**7** の場合では、酸処理または TMSI 処理によりジアミンを単離することができた。これに対し *exo* 配向ジペプチド **11** と **12** の場合、TMSI で処理すると複雑な反応混合物となった。検討の結果、ジペプチド **11** と **12** のジケトピペラジン形成は、水中に懸濁させたジペプチドをマイクロ波照射条件下 180 °C に加熱することで選択的に進行することが判明した。以上より、我々は WIN 64821 とエナンチオマーに加え、非天然型の立体化学を有するアナログ分子の合成に成功し、これらを共同研究先へ供出した。

Scheme 2 *exo* 配向 WIN 64821 アナログの合成



3-2 HCT116 細胞の In vitro アッセイ

当研究室ではエーザイ株式会社との共同研究として、ヒト結腸腺癌細胞 HCT116 株を用いた In vitro アッセイによる抗ガン活性の評価を依頼している。アッセイ方法を以下に概説する。1 ウェルにつき 2000 個の HCT116 細胞を、RPMI-1640 培地中で抗生物質ペニシリンとストレプトマイシンと血清と共に一夜培養する。これに我々の供出した化合物群の DMSO 溶液を添加し、5%の二酸化炭素雰囲気下で 3 日間培養する。WST-8 という市販の細胞計数用の化合物を添加し、450 nm の吸収を測定することで生細胞数を測定する(Figure 2)。WST-8 処理により生細胞数が計数できる原理は次の様になっている。生細胞では脱水素化酵素が NAD^+ や NADP^+ を用いて生体内の基質を酸化し、 NADH と NADPH が產生している。生細胞に存在する NADH と NADPH が電子伝達物質である 1-メトキシ PMS にヒドリドを与え、そのヒドリドが 1-メトキシ PMS から WST-8 に移動する。すると、WST-8 は環開裂により橙色色素ホルマザンを与える。したがって、生細胞数に比例して吸光度が大きくなるため、細胞数を定量化することができる。

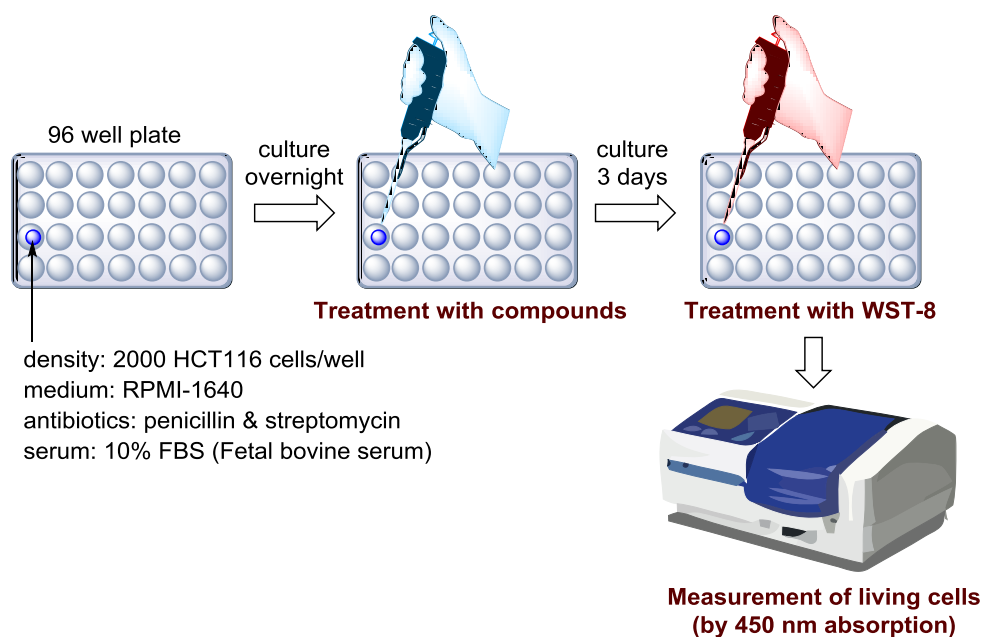


Figure 2 HCT116 細胞を用いた化合物群の生理活性評価方法

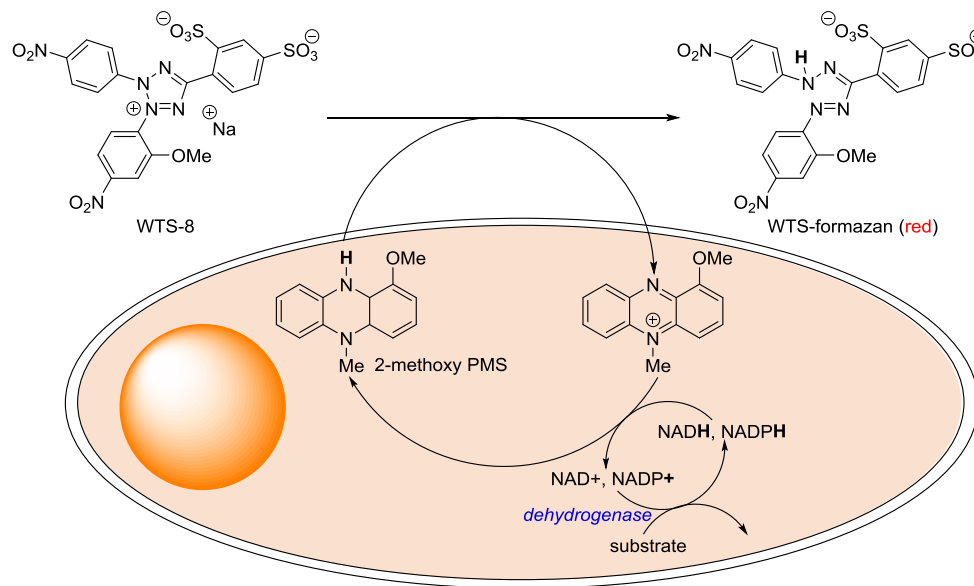
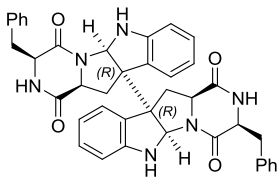
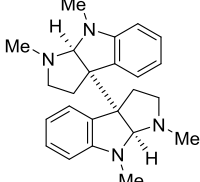
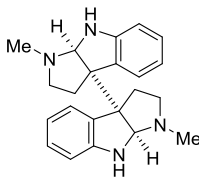
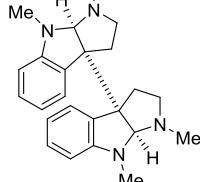
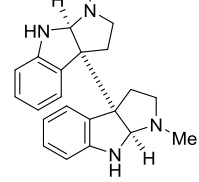
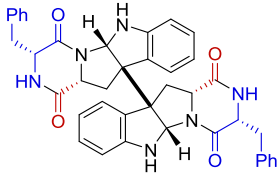
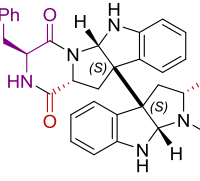
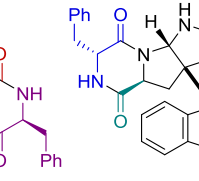
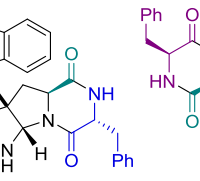


Figure 3 WST-8 による生細胞の吸光メカニズム

3-3 WIN 64821 とその立体異性体の構造活性相関

我々が合成した WIN 64821 (**1**)とそのエナンチオマー(*ent*-**1**)、非天然型立体化学のアナログ群(**2**, **8**, **9**)の活性を調査した結果(Table 1)、**1** と **2** にわずかながら癌細胞の増殖阻害活性があることが判明した(**1**: IC₅₀ = 40.9 μM, **2**: IC₅₀ = 49.8 μM)。また、トリプタミン由来の天然物 *rad**meso*-folicanthine と *rad**meso*-chimonanthine を比較した場合は *meso* 対称骨格が優れた活性を示している。ただし、C₂ 対称の化合物群はラセミ体であることを考慮すると、一方のエナンチオマーの活性は他方に対して優れた結果を与えることが予想されるため、今回の検討では *meso* 対称骨格が優れているという結論を導くことはできないと考えた。いずれにしても、ビスピロリジノインドリン骨格が HCT116 細胞に対して増殖阻害を示す構造モチーフであることが示唆されたことから、トリプトファン誘導体の立体化学について考察した。隣接四級炭素の連結様式が(*R,R*)と(*S,S*)のどちらが良いかは決定できないが、*endo* 配向であり L-フェニルアラニンを連結した二量体に細胞増殖抑制活性が発現する可能性があると考えた。

Table 1 ビスピロリジノインドリン天然物群の HCT116 細胞に対する増殖抑制活性

 1 IC ₅₀ : 40.9 μM	 <i>rac</i> -folicanthine IC ₅₀ : >100 μM	 <i>rac</i> -chimonanthine IC ₅₀ : 58 μM	 <i>meso</i> -folicanthine IC ₅₀ : 37 μM	 <i>meso</i> -chimonanthine IC ₅₀ : 14 μM
 <i>ent</i> - 1 IC ₅₀ : >100 μM	 2 IC ₅₀ : 49.8 μM	 8 IC ₅₀ : >100 μM	 9 IC ₅₀ : >100 μM	

この仮説を検証するため、ジケトピペラジンを構築する前のジペプチド群の生理活性評価を行った(Table 2)。その結果、ヒット化合物 **2** の合成中間体であるジペプチド **7** (MTOH53)にも同様の活性が見られた。驚くべきことに **7** は 3.03 μM という高い活性で癌細胞の増殖を阻害し、その際に特徴的な細胞伸長を誘導することが判明した (Figure 4)。この形態変化が他のがん細胞でも観測されるのか、なぜこのような現象が起きるのかは興味もたれるものの、現時点ではこれ以上の知見はなく今後検討予定である。活性発現に

必要な立体要因を正確に決定するため、アナログ **ent-8** と **1** の前駆体 **ent-6** の活性評価も行ったが、不活性であった(Table 2)。エナンチオマー **ent-7** にも活性がなかった。全てまとめると、1) 隣接四級炭素の連結様式が(*S,S*)、2) エステル基が *endo* 配向、3) L 体のフェニルアラニンが連結した **7** のみに優位な活性が認められた。したがって、この 3 か所の立体化学が HCT116 細胞の増殖抑制活性を発現するために重要な構造要因であると判断できる。

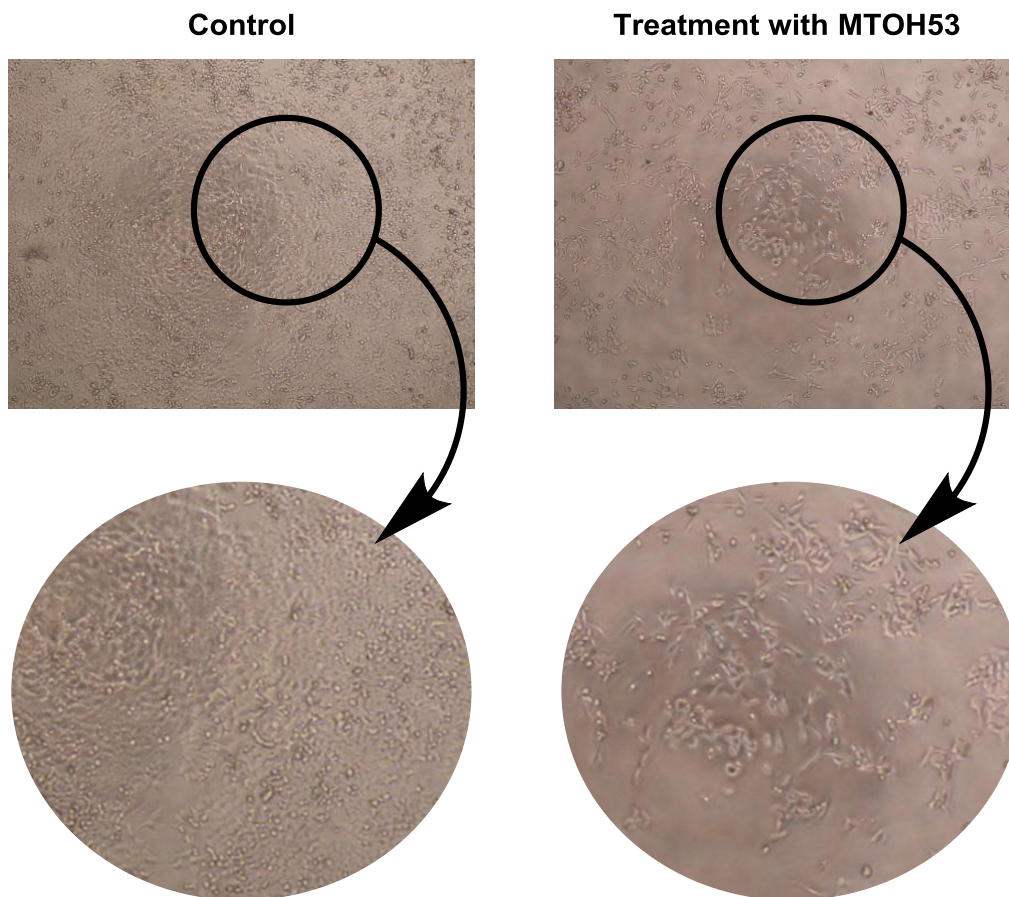
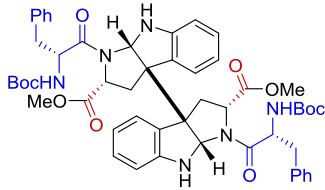
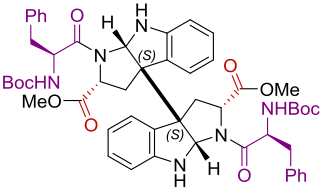
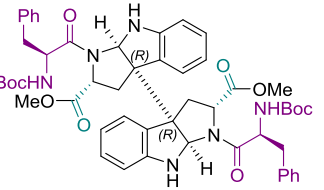
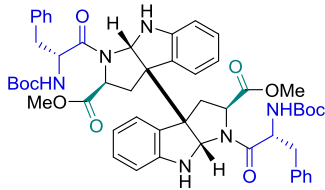
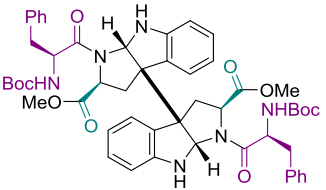
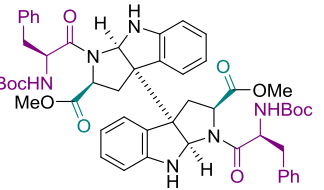


Figure 4 MTOH53 処理による細胞伸長

Table 2 合成ジペプチド群の HCT116 細胞に対する増殖抑制活性

 6 (MTOH52) IC₅₀: >100 μM	 7 (MTOH53) IC₅₀: 3.03 μM cytostatic	 ent-8 (MTOH97) IC₅₀: >100 μM
 11 (MTOH50) IC₅₀: >100 μM	 12 (MTOH51) IC₅₀: >100 μM	 ent-6 (MTOH71) IC₅₀: >100 μM

抗ガン活性の化合物には大別して 2 つの挙動がある。殺細胞的 (cytotoxic) な活性と静細胞的 (cytostatic) な活性である。前者は文字通り細胞を死滅させるメカニズムで抗癌作用を示し、後者は例えば細胞周期の停止などの機構で癌細胞の増殖抑制作用を示す。今回我々が合成した **7** (MTOH53) は、その作用メカニズムは不明であるが静細胞的な性質の抗癌活性であることが示唆された。Figure 5 は縦軸に癌細胞数の百分率 (%) を、横軸に **7** の濃度 (μM) を取り、化合物濃度と阻害活性の相関をグラフとしたものである。この曲線が特定の濃度を境に急激な変化を示している場合は、正常細胞とがん細胞の区別なく作用する非特異的な細胞毒性が疑われ、IC₅₀ 値が優れた値であっても有望なリード候補とはなりえないことが多い。その具体例として、当グループの別プロジェクトで合成された化合物 VMOH のアッセイ結果を示す。VMOH6 の濃度が 0.04~3.7 μM の場合は全く細胞数の減少が確認できない (>95%) が、11 μM では 9.4%まで細胞を減少させている。IC₅₀ 値は 6.91 μM であるものの、非特異的な細胞毒性の挙動を示す化合物であると判断される。一般に、脂溶性が高い化合物は非特異的に様々なタンパク質に吸着することが多く、非特異的な細胞毒性により細胞を死滅させることが知られている。分子構造から考えると VMOH6 は脂溶性が高いことが予想されることから、癌細胞に特異的に作用しているという結論には至らない。一方、**7** の活性は処理濃度の変化に応じてなだらかな曲線を描いており、濃度依存的挙動が確認された。立体化学に基づくスクリーニング結果より、**7** のみに癌細胞増殖抑制活性が認められたことから HCT116 細胞を特異的に認識して作用している可能性が示唆される。つまり、**7** はキラルな分子に対して特異的な認識能を有している可能性が高いと考えられる。

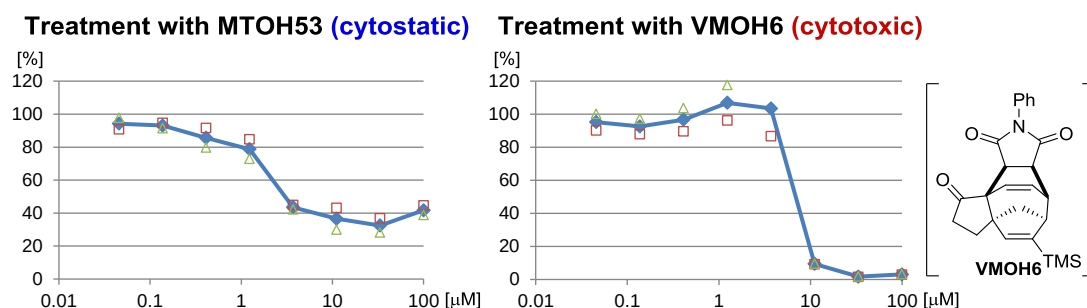


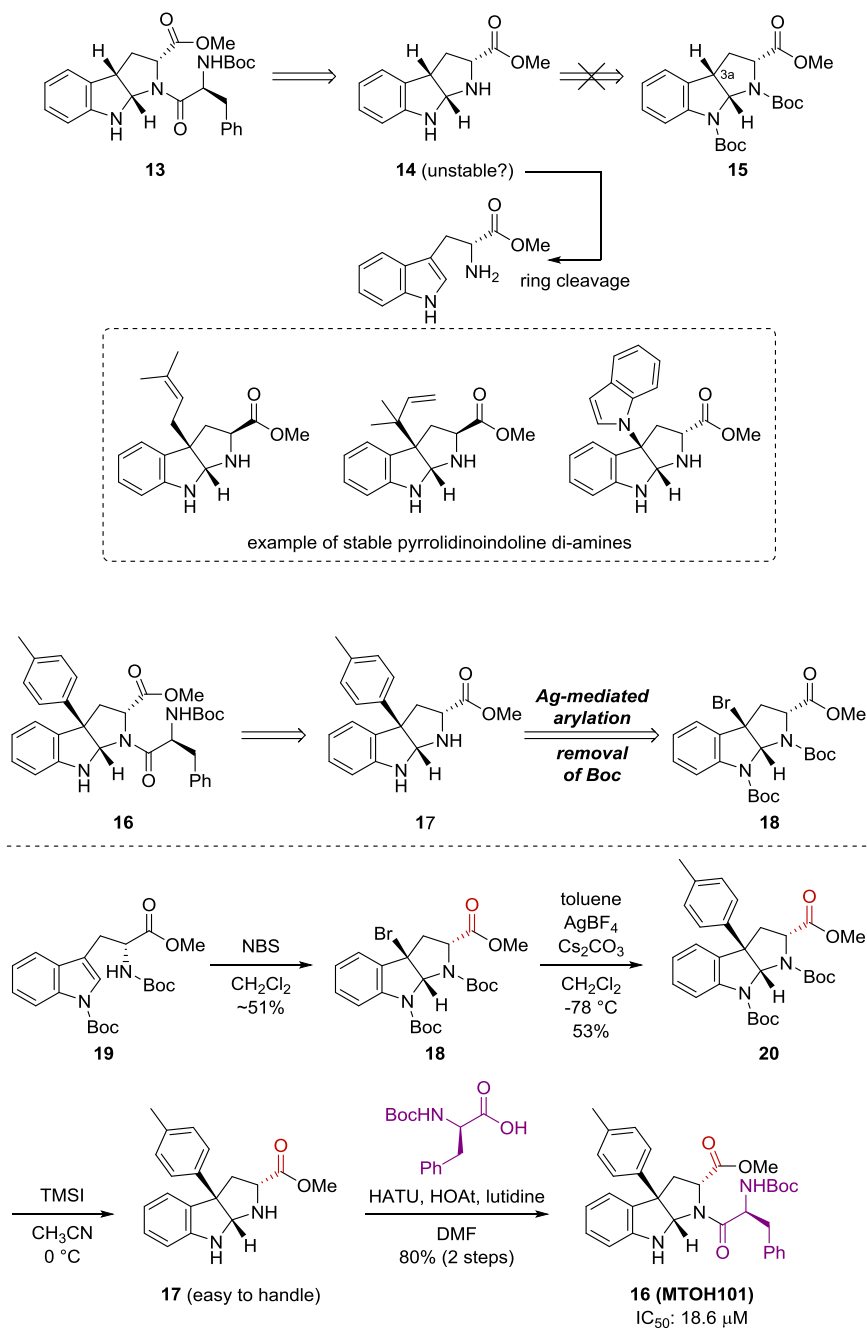
Figure 5 MTOH53 の濃度依存的な抗癌活性（左）と非特異的吸着による細胞毒性（右）

ここまでの検討は全て二量体のみの生理活性を評価し、単量体に対する知見がなかった。二量体であることの重要性を検証するため、コントロール実験としてヒット化合物 **7** の単量体の活性を評価しようと考えた。最も適したモノマーの構造は **13** であると考えられるが、C3a 位に C-H 結合を有する化合物でジアミンを単離した例がない。したがって、**15**→**14**→**13** という経路での合成が難しいと予想された。一方、C3a 位に炭素またはヘテロ原子の置換基が連結している場合にはジアミンが単離できる²。そこで、Wang らの報告した銀塩を用いるピロリジノインドリンへの Friedel-Crafts 型アリール基導入反応³を利用し、単量体アナログ **16** を合成しようと考えた(Scheme 3)。また、Espejo らの報告したシクロプロパンを経由する C3a 位のメチル化反応⁴

D-トリプトファンから誘導した **19** を高希釈条件下 NBS で処理し、*endo* 配向臭化物 **18** を 51% の収率で得た (*exo* 配向：収率未決定)。**18** を 3 当量のトルエンと炭酸セシウムと共にジクロロメタンに溶解させ、-78 °C で 1.5 当量の AgBF₄ で処理して **20** を 53% の単離収率で得た。**20** を TMSI で処理してジアミン **17** とした。**17** の粗生成物に縮合剤 HATU を用いて *N*-Boc-L-フェニルアラニンを連結し、2 段階 80% の収率で目的物 **16** を得た。その活性を評価したところ、IC₅₀ 値は 18.6 μM であった。

したがって、単量体でも活性は発現するものの二量体に比べるとその強度は劣ることがわかり、二量体であることの優位性を確認することができたと考えている。なお、メチル基を有する単量体アナログは現在活性評価中である。

Scheme 3 モノマーアナログの合成計画



3-4 ヒット化合物 MTOH53 の置換基改変による構造活性相関研究

前節では生理活性発現に必要な構造要因を明らかにすることができた。本節では、置換基の改変による構造活性相関を調べることで、**7** (MTOH53)の活性向上を目指した。分子プローブ化への応用も視野に入れ、どの官能基が改変可能かを調べる目的もある。1) エステル側鎖の改変、2) フェニルアラニン由来窒素の Boc 基除去、3) アミノ酸側鎖の改変、以上の3点に的を絞り第二世代化合物群の合成に着手した。

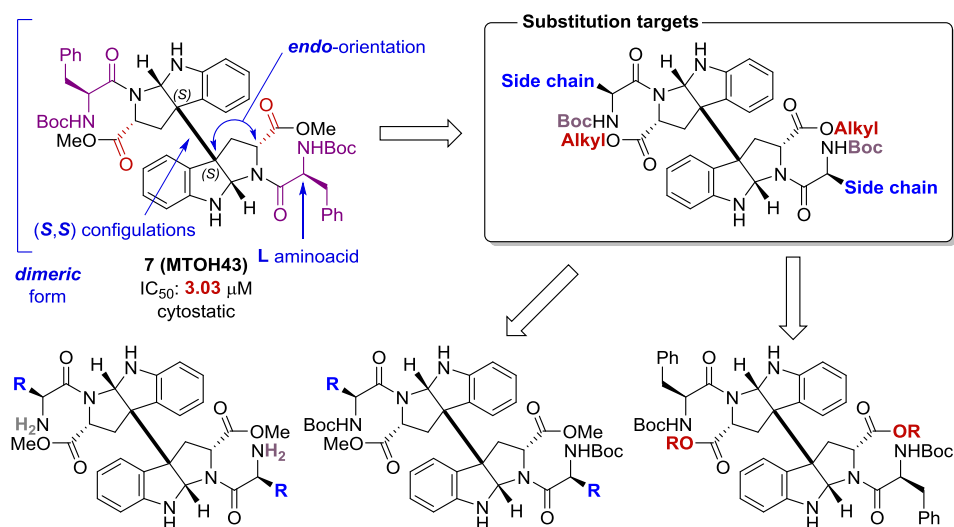
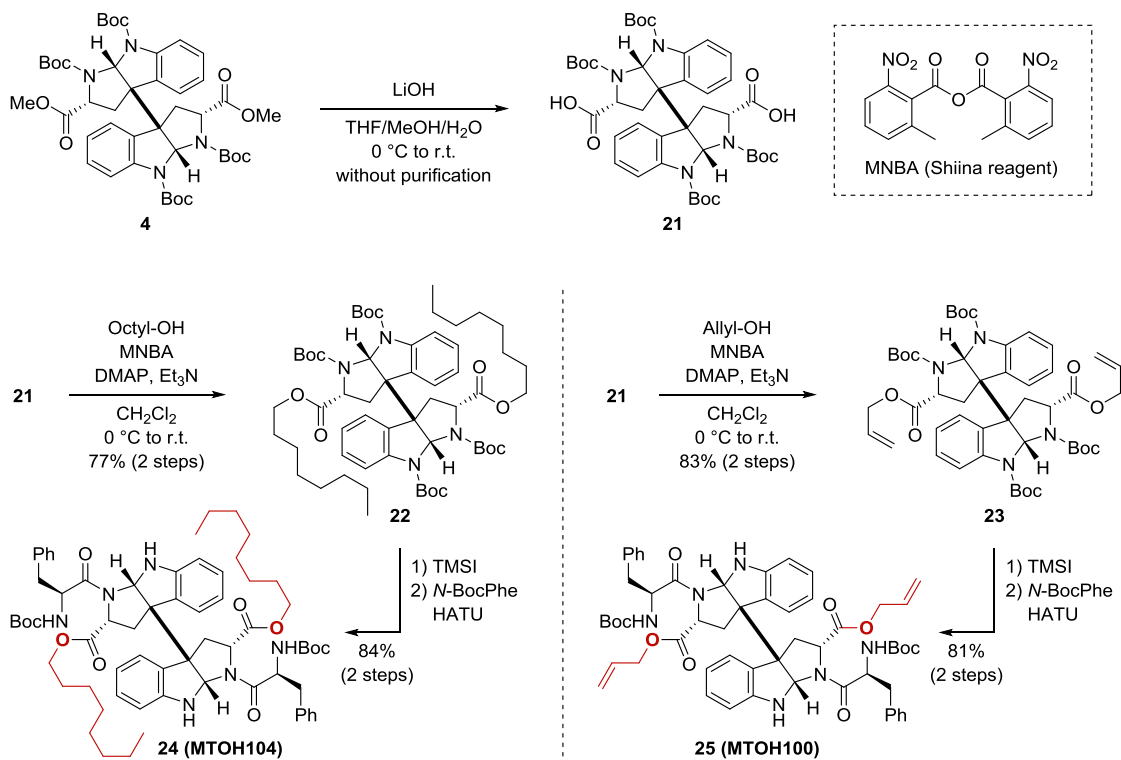


Figure 6 活性発現に必要な三次元構造要因とヒット化合物の構造改変計画

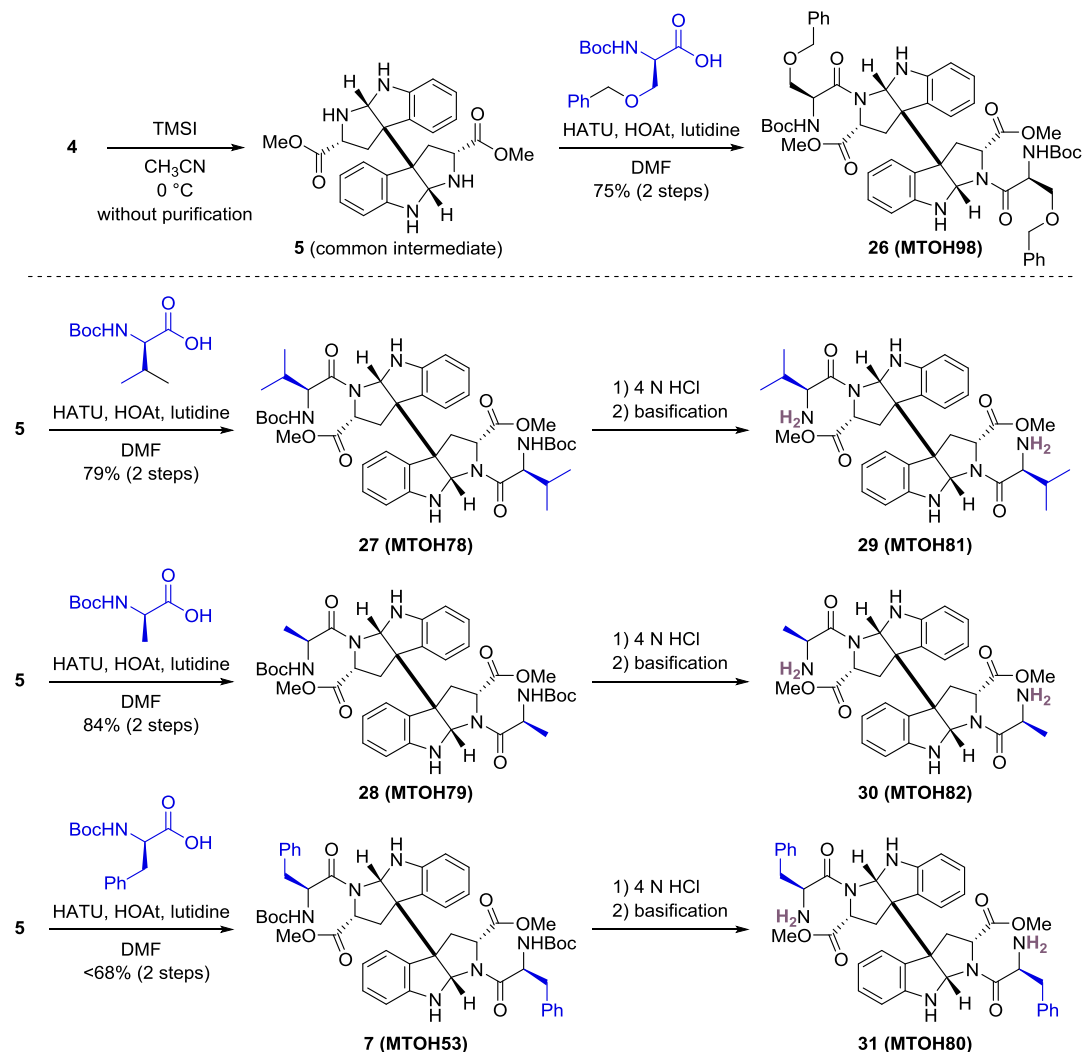
まず、エステル側鎖を改変した。疎水性相互作用を高めることが期待されるオクチル ($n\text{C}_8\text{H}_{17}$)基、また、オレフィンメタセシスによる誘導化が容易なアリル基を導入した。二量体の加水分解は Movassaghi らが 5 M の KOH 溶液を用いる条件を報告していたが⁵、より温和な条件を検討した。二量体 **4** を水/メタノール/THF の混合溶媒に溶解させ、20 当量 (1 反応点あたり 10 当量) の水酸化リチウムで処理することで所望のジカルボン酸 **21** を得ることができた。触媒量の DMAP 存在下、椎名試薬 MNBA⁶を用いてジカルボン酸 **21** にオクチルアルコール、またはアリルアルコールを縮合して対応するジエステルへと変換した。ジオクチルエステル **22** は 2 段階 77%の収率で、ジアリルエステル **23** は 2 段階 83%の収率で得られた。脱保護とフェニルアラニン連結という Scheme 1 と同様の方法で、ジエステルをジペプチドへと変換した。ジオクチルアナログ **24** は 2 段階 84%の収率で、ジアリルアナログ **25** は 2 段階 81%の収率で得られた。

Scheme 4 エステル置換アナログの合成



続いて、アミノ酸側鎖の改変を行った。Scheme 1に記載した合成経路と同様にして、縮合剤 HATU を用いてテトラアミン **5** に $N\text{-Boc(OBn)}$ セリン、 $N\text{-Boc}$ バリン(Val)と $N\text{-Boc}$ アラニン(Ala)をそれぞれ連結した。セリンアナログ **26** (MTOH98)は2段階 75%の収率で、バリンアナログ **27** (MTOH78)は2段階 79%の収率で、アラニンアナログ **28** (MTOH79)は2段階 84%の収率でそれぞれ得られた。得られたバリンアナログ **27** (MTOH78)、アラニンアナログ **28** (MTOH79)とヒット化合物 **7** (MTOH53)の Boc 基を塩酸で処理することで除去し、中和してから単離することでそれぞれを対応するテトラアミンを得た (バリン縮合ジアミン **29** (MTOH81)、アラニン縮合ジアミン **30** (MTOH82)、フェニルアラニン縮合ジアミン **31**(MTOH80))。

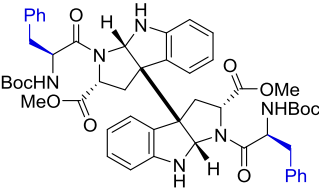
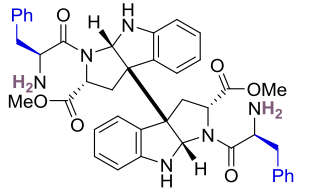
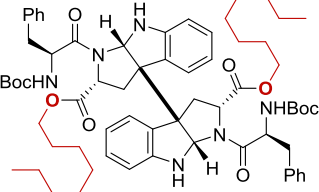
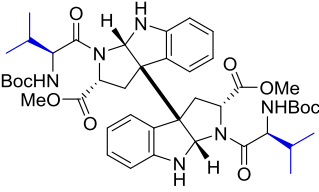
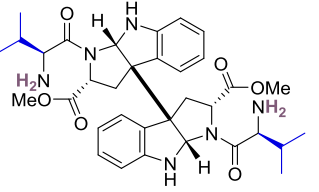
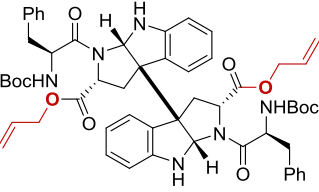
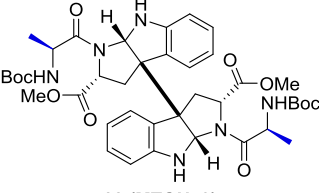
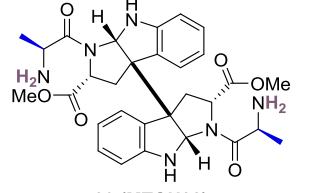
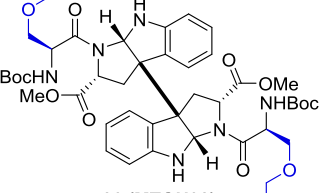
Scheme 5 アミノ酸改変アナログの合成



ヒット化合物 **7** (MTOH53)の置換基構造を改変したアナログ群の生理活性を以下にまとめた。結論から先に述べると、今回合成した化合物群には **7** (MTOH53)の活性を超える化合物は見出すことができなかったが、置換基改変の効果と今後の分子デザインへの示唆を得ることができた。直鎖 C8 ユニットを有するオクチルエステル **24** (MTOH104)では活性が激減した(IC₅₀: >100 μM)。不飽和 C3 ユニットを有するアリルエステル **25** (MTOH100)は MTOH53 に比べると活性が低下したものの静細胞的な増殖阻害活性を有し(IC₅₀: 8.25 μM)、特徴的な細胞変化も観察されたことから、MTOH53 とおそらくほぼ同様の作用メカニズムで活性を示すことが示唆された。以上より、エステル側鎖の改変は炭素鎖が伸びるに従って活性の低下につながることを予想される。今後はエステル部分を除去するか、アミンやヒドラジンを連結することで活性の向上が期待できるのではないかと考えている。アミノ酸側鎖の改変では、側鎖が大きすぎても小さすぎても活性が低下することが判明した。酸素原子をベンジル基で保護したセリンを連結したアナログ **26** (MTOH98)は活性が大幅に減

弱した(IC_{50} : $>100\ \mu M$)。最も置換基サイズが最小のアラニンアナログ **28** (MTOH79)も大きく活性が低下した (IC_{50} : $71.7\ \mu M$)。一方、バリンアナログ **27** (MTOH78)は活性低下の幅が小さかった (IC_{50} : $15.1\ \mu M$)。Boc 基の除去は水溶性の向上による生理活性改善を期待して行ったがすべての場合で活性が减弱した。ヒット化合物アナログ **31** (MTOH80)はかろうじて活性を有しているものの (IC_{50} : $48.8\ \mu M$)、バリンアナログ **29**(MTOH81)とアラニンアナログ **30** (MTOH82)は両者とも IC_{50} 値が $>100\ \mu M$ となった。

Table 3 置換基を改変したアナログ群の HCT116 細胞に対する増殖抑制活性

 7 (MTOH53) IC_{50}: $3.03\ \mu M$ cytostatic	 31 (MTOH80) IC_{50}: $48.8\ \mu M$ cytostatic	 24 (MTOH104) IC_{50}: $>100\ \mu M$
 27 (MTOH78) IC_{50}: $15.1\ \mu M$ cytostatic	 29 (MTOH81) IC_{50}: $>100\ \mu M$	 25 (MTOH100) IC_{50}: $8.25\ \mu M$ cytostatic
 28 (MTOH79) IC_{50}: $71.7\ \mu M$ cytostatic	 30 (MTOH82) IC_{50}: $>100\ \mu M$	 26 (MTOH98) IC_{50}: $>100\ \mu M$

3-5 結論

非天然型天然物の系統的合成と生理活性評価により、新規機能性分子の探索と活性発現に必要な立体的化学の絞り込みを検討した。当初の目的である非天然型天然物からのリード化合物発見とはならなかったものの、微生物培養では生産できないジペプチド中間体から興味深いヒット化合物 **2** (MTOH53)を発見することができた。その結果を受けて新たにデザインした「適切な立体化学を有する化合物群」には系統的に活性が見られ、改変可能な置換基についても評価することができた。以上より、天然物の立体化学と骨格を改変するアプローチで生理活性物質を創製する本研究の実行性と可能性をある程度検証することができた。我々の知る限り、硫黄架橋構造をもたないビスピロリジノインドリン化合物において静癒的な抗ガン活性が発見されたのは珍しい例である⁷。今後の課題としては作用標的の探索と静細胞的な癌細胞増殖抑制のメカニズムの解明が挙げられる。本アプローチを他の構造モチーフの天然物や他の評価系にも適用し、分子を構成する三次元的構造から生理活性とその標的を予想できるようになることが期待される。

-
- ¹ a) de Lera, Á. R.; Pérez-Balado, C. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3701. b) Pérez-Balado, C.; Rodríguez-Graña, P.; de Lera, Á. R. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9928.
- ² a) Depew, K. M.; Marsden, S. P.; Zatorska, D.; Zatorski, A.; Bornmann, W. G.; Danishefsky, S. J. *J. Am. Chem. Soc.* **1999**, *121*, 11953. b) Wang, M.; Feng, X.; Cai, L.; Xu, Z.; Ye, T. *Chem. Comm.* **2012**, *48*, 4344. c) Espejo, V. R.; Rainier, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12894. d) Welch, T. R.; Williams, R. M. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 770.
- ³ Wang, Y.; Kong, C.; Du, Y.; Song, H.; Zhang, D.; Qin, Y. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 2793.
- ⁴ JACS *o*
- ⁵ Movassaghi, M.; Schmidt, M. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3725.
- ⁶ Shiina, I.; Ibuka, R.; Kubota, M. *Chem. Lett.* **2002**, 286.
- ⁷ Boyer, N.; Morrison, K. C.; Kim, J.; Hergenrother, P. J.; Movassaghi, M. *Chem. Sci.* **2013**, *4*, 1646.

第 4 章 結論

第二章では、生理活性アルカロイドの代表的構造モチーフであるビスピロリジノインドリンの隣接四級炭素を触媒的に構築する手法を開発した。また、これを鍵工程としてビスピロリジノインドリン天然物群の全合成を達成した。触媒系の探索において、ニッケルと二座のホスフィン配位子からなる触媒系がピロリジノインドリン臭化物の二量化を効率的に進行させることを見出した。トリプトファンから誘導したエステル基の相対立体配置が異なる 2 種類のジアステレオマーを基質とした場合はどちらも主生成物として所望の二量体を与えた。試薬の組み合わせを微調整することでトリプタミン誘導体の二量化に適用可能であり、本触媒系の柔軟性の高さが実証された。反応機構の推定には至れていないものの、各種コントロール実験や阻害剤の添加により、本反応へのラジカル関与が予想される結果を得た。トリプトファン、トリプタミン両誘導体から得られたビスピロリジノインドリンを出発物質として、天然物 WIN 64821 と *rac-C*/*meso* folicanthine, *rac-C*/*meso* chimonanthine の短段階合成（全て二量体より 4 工程以内）を達成した。

第三章では、天然物 WIN 64821 の立体化学を系統的に改変した同一分子量のアナログ群について、エーザイ株式会社との共同研究で癌細胞増殖阻害活性の評価を行った。第二章で開発したニッケル触媒によるピロリジノインドリンの触媒的二量化で *exo* 配向の二量体をグラムスケールで供給した。エステルの立体化学の反転と D/L-フェニルアラニンの縮合を組み合わせることで、合成後期で分子の構造を多様化して 4 系統の天然物の立体異性体を系統的に合成した。天然物と 4 種の異性体の活性強度の比較により、立体化学に基づく構造活性相関研究を行い、癌細胞増殖阻害に必要な立体化学を推定した。活性発現に必要な立体要因を備えた化合物群の中からリード化合物 MTOH53 を見出した。MTOH53 の置換基を改変した化合物群の活性を評価・比較し、活性を向上させたリード化合物や分子プローブの創製につながる知見を得ることができた。

我々は、ニッケル触媒を用いたピロリジノインドリン還元的二量化を達成し天然物とそのアナログの生理活性を共同研究者と共に評価した。In vitro のアッセイで有望な結果を示す MTOH53 を見出し、活性発現に化合物の立体化学が重要な役割を果たすことを示した。天然物の立体化学や骨格を改変するアプローチにより、生理活性物質の探索が可能であり、ファルマコフォアの三次元構造を規定する立体化学の組み合わせを絞り込むことができることを実証した。

謝辞

本研究・本論文の作成に際して、様々なご指導を頂いた及川英秋教授に深く感謝致します。

やりがいのあるテーマを与えてくださり、厳しくも丁寧なご指導で研究者としての成長をご支援いただいた大栗博毅准教授に感謝致します。

本研究を進行する上で、様々なご指導・ご助言を頂いた南篤志助教をはじめとする有機反応論研究室のすべての皆様に深く感謝致します。

本研究の共同研究者である、エーザイ株式会社オンコロジー創薬ユニットケミカルバイオロジー研究室の上仲俊光博士、高瀬保孝博士、小竹良彦博士、鎗木洋介博士に深く感謝致します。

貴重な配位子を御恵与いただき、様々なご助言を頂きました京都大学工業化学科の中村正治教授、関西学院大学理工学部 of 畠山琢次准教授に深く感謝致します。

本論文のご高閲を賜りました北海道大学大学院理学研究科の鈴木孝紀教授、谷野圭持教授、北海道大学大学院工学研究科の伊藤肇教授に深く感謝致します。

本研究を遂行する上での礎を築いてくださった村田貴久修士に深く感謝致します。

学業に専念できる環境を作り、毎日を支えていただいた家族に深く感謝いたします。

第 5 章 Experimental

5-1 General methods

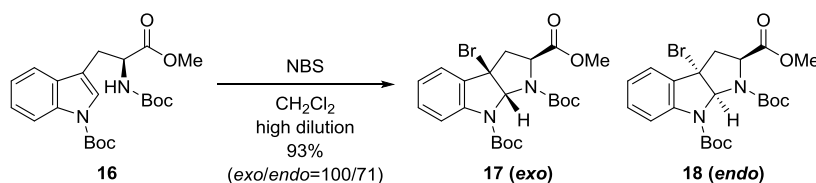
All reactions were performed under a nitrogen atmosphere unless otherwise specified. NMR spectra were recorded on JEOL α 400, JNM-ECX 400 ($^1\text{H}/400\text{ MHz}$, $^{13}\text{C}/100\text{ MHz}$), and Bulker VSP 500 ($^1\text{H}/500\text{ MHz}$, $^{13}\text{C}/125\text{ MHz}$) spectrometers. Chemical shifts are reported in δ (ppm) using chloroform as an internal standard of δ 7.26, and 77.16, acetonitrile as an internal standard of δ 1.94, and 118.26, methanol as an internal standard of δ 3.31, and 49.00, and dimethyl sulfoxide as an internal standard of δ 2.50, and 39.52 for ^1H and ^{13}C NMR, respectively. Data for ^1H NMR are reported as follows: chemical shift (number of hydrogens, multiplicity, coupling constant). Multiplicity is abbreviated as follows: s (singlet), d (doublet), t (triplet), q (quartet), quin (quintet), m (multiplet), br (broad). ESI-Mass spectra were recorded on JEOL The AccuTOF LC-Plus JMS-T100. Optical rotations were recorded on JASCO DIP-360 digital polarimeter. The medium pressure liquid chromatography (MPLC) purifications were performed on a YAMAZEN YFLC-AI-580. Where necessary, solvents were distilled from appropriate drying agents prior to use. Reactions were monitored by thin layer chromatography using Merck Millipore TLC Silica gel F₂₅₄ plates (0.25 mm) which were visualized using UV light, *p*-anisaldehyde stain, and PMS stain. Flash column chromatography was performed using Kanto Silica Gel 60N or Amino silica-gel [Kanto Silica Gel 60 (spherical) NH₂].

5-2 Materials

NiCl_2 was purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. and used after vacuuming for 5 h. $\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, $\text{NiF}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, NiBr_2 , CuCl_2 , FeCl_3 , and CoCl_2 were purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd. and used as received. NiI_2 was purchased from Alfa Aesar and used as received. $\text{NiI}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ was purchased from Nacalai Tesque, Inc. and used as received. Manganese and InCl_3 were purchased from Aldrich Chemical Co. and used as received. The ligands (SciOPP and TMS-SciOPP)¹ were provided through the generous gift by Prof. Masaharu Nakamura (Kyoto Univ.) and Prof. Takuji Hatakeyama (Kwansei Gakuin Univ.).

5-3 Synthetic procedures

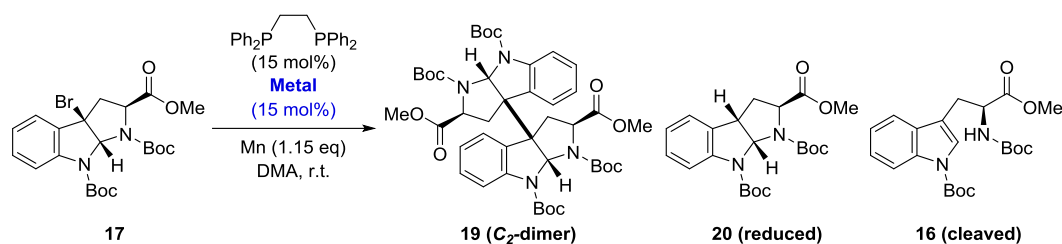
exo-Bromide (**7**) and *endo*-bromide (**11**).



To a solution of NBS (294 mg, 1.65 mmol, 1.1 eq.) in dichloromethane (150 mL), **16** (626 mg, 1.5 mmol) was added. After being stirred at room temperature for 26 h, the mixture was treated with saturated aqueous solution of Na₂SO₃ and extracted with chloroform. The organic layer was washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was filtered through a short plug of silica gel to give a mixture of the desired bromides (693 mg, 1.39 mmol, 93%, **7 (exo)**–**11 (endo)** = 100 : 71). These diastereomers were easily separated by silica-gel column chromatography to produce **17**¹ (*exo*) and **18** (*endo*), 54% and 39% yields, respectively.

17 (exo): ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.54 (1H, br-s), 7.42–7.29 (2H, m), 7.13 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 6.40 (1H, s), 3.89 (1H, dd, *J* = 10.4, 6.3 Hz), 3.75 (3H, s), 3.21 (1H, dd, *J* = 12.6, 6.3 Hz), 2.82 (1H, dd, *J* = 12.5, 10.4 Hz), 1.59 (9H, s), 1.41 (9H, br-s); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 171.68, 152.37, 141.70, 133.02, 130.77, 124.54, 123.37, 118.79, 83.97, 82.47, 81.67, 59.89, 59.63, 52.55, 42.24, 28.42, 28.36; HR-MS (ESI): calcd. C₂₂H₂₉BrN₂O₆Na [M+Na]⁺ 519.1101, found 519.1128; [α]_D²⁵ -144 (c 1.0, CHCl₃).

18 (endo): ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃): δ 7.55 (1H, br-s), 7.31–7.24 (2H, m), 7.04 (1H, t, *J* = 7.5 Hz), 6.44 (1H, s), 4.54 (1H, d, *J* = 8.7 Hz), 3.27 (1H, d, *J* = 12.9 Hz), 3.13 (3H, s), 3.08 (1H, dd, *J* = 12.9, 9.3 Hz), 1.60 (9H, s), 1.47 (9H, br-s); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃): δ 170.92, 152.29, 142.64, 132.58, 130.79, 124.03, 118.27, 84.49, 82.28, 81.63, 60.51, 59.78, 52.18, 43.56, 28.49, 28.38; HR-MS (ESI): calcd. C₂₂H₃₀BrN₂O₆ [M+H]⁺ 497.1282, found 497.1284; [α]_D²⁵ +76 (c 1.0, CHCl₃).



General procedure

To a mixture of metal catalyst (0.120 mmol, 15 mol%) and DPPE (47.8 mg, 0.120 mmol, 15 mol%) in DMA (650 μL) was added bromide **17** (398 mg, 0.800 mmol), and resulting mixture was purged with nitrogen. After treatment with Mn (50.5 mg, 0.920 mmol, 1.15 eq), the resulting suspension was immediately purged again with nitrogen and stirred at room temperature for 12 h. The mixture was diluted with AcOEt and treated with 1 N HCl. After separation of aqueous phase, organic layer was washed with H_2O x2, 1 N HCl, saturated aqueous solution of Na_2SO_3 , and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to isolate dimer **19**¹, byproducts (**20** and **16**) and recovered substrate **17**.

Procedure with pretreatment of anhydrous metal catalyst with H_2O

Anhydrous metal catalyst (0.120 mmol, 15 mol%) and H_2O (0.720 mmol, 90 mol%) were premixed, and then DMA (650 μL) was added. To a resulting mixture of metal catalyst in DMA were added DPPE (47.8 mg, 0.120 mmol, 15 mol%) and bromide **17** (398 mg, 0.800 mmol), and resulting mixture was purged with nitrogen. After addition of Mn (50.5 mg, 0.920 mmol, 1.15 eq), the resulting suspension was immediately purged again with nitrogen and stirred at room temperature for 12 h. The mixture was diluted with AcOEt and treated with 1 N HCl. After separation of aqueous phase, organic layer was washed with H_2O x2, 1 N HCl, saturated aqueous solution of Na_2SO_3 , and brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to isolate dimer **19**, byproducts (**20** and **16**) and recovered substrate **17**.

C₂-Dimer **19** (exo): ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 95 °C): δ 7.37 (2H, d, J = 8.0 Hz), 7.21-7.11 (4H, m), 6.91 (2H, m), 6.09 (2H, s), 3.70 (2H, m), 3.68 (6H, s), 2.64 (2H, dd, J = 12.7, 7.0 Hz), 2.25 (2H, dd, J = 12.7, 9.5 Hz), 1.57 (18H, s), 1.33 (18H, s); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO, 95 °C): 171.39, 151.26, 150.45, 141.16, 130.28, 128.72, 123.47, 122.23, 115.86, 80.84, 80.04, 78.61, 58.07, 57.75, 51.35, 34.49, 27.43, 27.27; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{44}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 857.3943, found 857.3957; $[\alpha]_{\text{D}}^{27}$ -133 (c 1.0, CHCl_3).

20: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7.54 (1H, br-s), 7.21 (1H, t, $J = 7.6$ Hz), 7.15 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 7.03 (1H, t, $J = 7.5$ Hz), 6.36 (1H, d, $J = 5.9$ Hz), 4.00-3.90 (2H, m), 3.71 (3H, s), 2.53 (1H, dd, $J = 12.7, 6.9$ Hz), 2.27 (1H, ddd, $J = 12.7, 10.0, 7.2$ Hz), 1.56 (9H, s), 1.39 (9H, br-s); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 173.24, 152.51, 142.48, 132.19, 128.38, 123.52, 117.79, 81.61, 80.82, 59.07, 52.18, 44.90, 33.03, 28.41, 28.33; HR-MS (ESI): calcd. $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 419.2177, found 419.2172; $[\alpha]_{\text{D}}^{28} -100$ (c 1.0, CHCl_3).

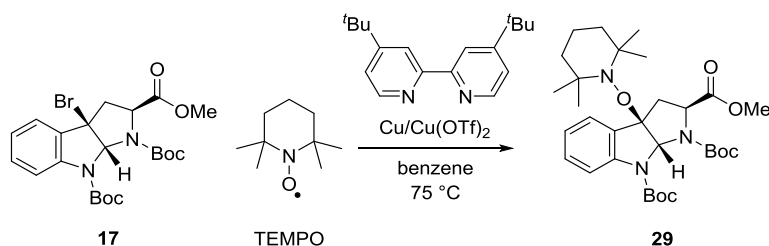
Dimerization of *endo* bromide

According to the general procedure, bromide **18** (398 mg, 0.800 mmol) was treated with $\text{NiI}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (50.5 mg, 0.120 mmol, 15 mol%), DPPE (47.6 mg, 0.119 mmol, 15 mol%) and Mn (50.5 mg, 0.919 mmol, 1.15 eq.) in DMA (650 μL) at room temperature for 12 h under nitrogen atmosphere to afford C_2 -dimer **21** (42%), **22**² (17%), and **16** (17%).

21 (*endo*): ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 50 $^\circ\text{C}$): δ 7.38 (2H, d, $J = 7.1$ Hz), 7.09 (2H, m), 6.96 (2H, d, $J = 7.5$ Hz), 6.79 (2H, t, $J = 7.5$ Hz), 6.37 (2H, s), 4.53 (2H, t, $J = 4.7$ Hz), 3.06 (6H, s), 2.53 (4H, d, $J = 4.9$ Hz), 1.61 (18H, s), 1.48 (18H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , 50 $^\circ\text{C}$): δ 171.33, 152.17, 143.74, 130.52, 129.50, 125.11, 122.51, 117.37, 81.91, 79.47, 77.36, 59.29, 51.84, 35.91, 28.58; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{44}\text{H}_{58}\text{N}_4\text{O}_{12}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 857.3943, found 857.3957; $[\alpha]_{\text{D}}^{28} +97$ (c 1.0, CHCl_3).

22: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3): δ 7.53 (1H, br-s), 7.17 (1H, t, $J = 7.7$ Hz), 7.08 (1H, d, $J = 7.4$ Hz), 6.95 (1H, t, $J = 7.4$ Hz), 6.41 (1H, d, $J = 6.6$ Hz), 4.56 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 3.96 (1H, t, $J = 6.6$ Hz), 3.13 (3H, s), 2.58 (1H, d, $J = 12.9$ Hz), 2.52 (1H, m), 1.58 (9H, s), 1.46 (9H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3): δ 172.34, 152.59, 143.38, 131.82, 128.43, 124.03, 123.12, 117.26, 81.51, 80.82, 76.92, 59.49, 51.95, 44.92, 33.87, 28.53, 28.45; HR-MS (ESI): calcd. $\text{C}_{22}\text{H}_{31}\text{N}_2\text{O}_6$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 419.2177, found 419.2171; $[\alpha]_{\text{D}}^{27} +5.0$ (c 1.0, CHCl_3).

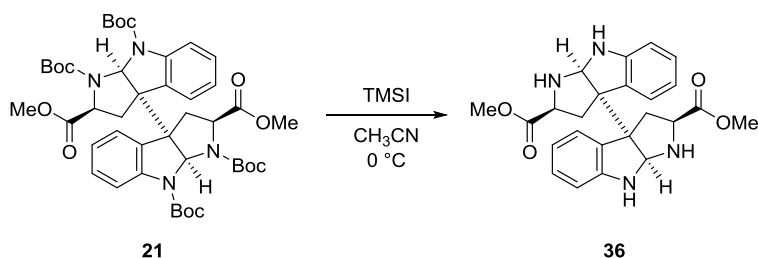
TEMPO-adduct **29**



By adapting the protocol reported by Matyjaszewski³, a mixture of bromide **7** (499 mg, 1.00 mmol), TEMPO (180 mg, 1.15 mmol), copper shot (955 mg, 15.0 mmol), Cu(OTf)₂ (37.9 mg, 0.105 mmol, 11 mol%) and (4,4'-di-*tert*-butyl)-2,2'-bipyridine (116 mg, 0.432 mmol, 43 mol%) were suspended in benzene (6 mL) under nitrogen atmosphere. Resulting suspension was heated at 75 °C and stirred for 20 h. After being cooled to room temperature, suspension was filtered through a pad of Celite, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford **29** (481 mg, 0.838 mmol, 84%) as a white amorphous.

29: ¹H NMR (400 MHz, CDCl₃, 45 °C): δ 7.54 (1H, br-s), 7.37 (1H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.28 (1H, m), 7.07 (1H, t, *J* = 7.4 Hz), 6.61 (1H, s), 3.81 (1H, m), 3.72 (3H, d, *J* = 1.6 Hz), 2.76-2.64 (2H, m), 1.56 (9H, s), 1.40 (9H, s), 1.44-1.31 (5H, m), 1.29-1.21 (1H, m), 1.08-0.98 (6H, m), 0.94-0.70 (6H, m); ¹³C NMR (100 MHz, CDCl₃, 45 °C): δ 172.56, 152.63, 144.42, 132.86, 130.11, 125.57, 123.39, 117.96, 91.89, 81.39, 80.89, 79.67, 77.36, 60.66, 59.82, 59.64, 52.10, 41.16, 40.69, 40.61, 33.91, 33.14, 28.48, 28.41, 20.78, 20.71, 17.22; HR-MS (ESI): calcd. C₃₁H₄₈N₃O₇ [M+H]⁺ 574.3487, found 574.3515; [α]_D²⁷ -116 (c 1.0, CHCl₃).

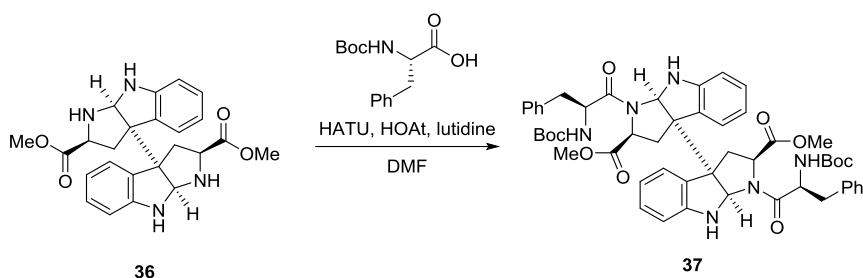
Synthesis of tetra-amine **36**



Iodotrimethylsilane (220 μL, 1.62 mmol, 10.6 eq.) was added dropwisely to a solution of the C₂-dimer **21** (128 mg, 0.153 mmol) in acetonitrile (3.1 mL) at 0 °C. The resulting solution was stirred at 0 °C for 90 min and then treated with saturated aqueous solution of Na₂SO₃. The resulting mixture was extracted with chloroform 4-5 times. Combined extracts were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude tetra-amine **36** (81.7 mg) as a yellow amorphous. The crude tetra-amine **36**¹ was subjected to the next reaction without further purification.

36: ^1H NMR (500 MHz, CD_3OD): δ 7.19 (2H, d, $J = 7.6$ Hz), 7.03 (2H, td, $J = 7.6, 0.9$ Hz), 6.67 (2H, td, $J = 7.5, 0.9$ Hz), 6.55 (2H, d, $J = 7.8$ Hz), 4.65 (2H, s), 3.74 (2H, dd, $J = 8.0, 2.8$ Hz), 3.26 (6H, s), 2.83 (2H, dd, $J = 13.0, 8.0$ Hz), 2.53 (2H, dd, $J = 13.0, 2.8$ Hz); ^{13}C NMR (125 MHz, CD_3OD): δ 175.15, 152.84, 130.81, 130.11, 127.15, 119.13, 110.81, 81.85, 63.11, 60.86, 52.40, 39.29; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_4\text{O}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 435.2027, found 435.2046.

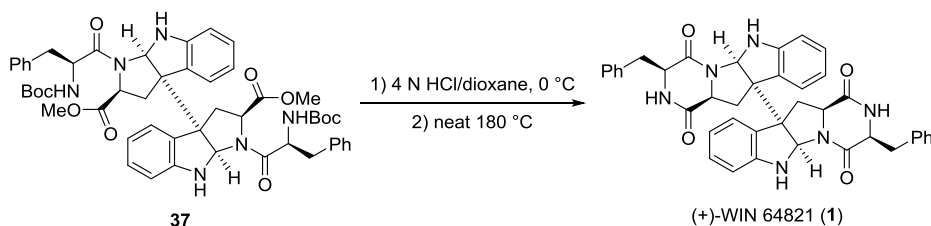
Synthesis of dipeptide **37**



To a solution of Boc-Phe-OH (126 mg, 0.475 mmol, 3.1 eq.), HOAt (73 mg, 0.536 mmol, 3.5 eq.), HATU (195 mg, 0.514 mmol, 3.4 eq.), and 2,6-lutidine (260 μL , 2.23 mmol, 14.6 eq.) in DMF (1.3 mL) was added the solution of the crude tetra-amine **36** (81.7 mg) in DMF (2 mL) at 0 $^\circ\text{C}$. After being warmed up to room temperature, the mixture was stirred for 7 h. The solution was diluted with AcOEt and treated with saturated aqueous solution of NH_4Cl . After separation of organic layer, the aqueous phase was extracted with AcOEt. Combined organic extracts were washed with saturated aqueous solution of NaHCO_3 , H_2O x3, and brine. The extract was dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford dipeptide **37** (108 mg, 0.116 mmol, 76% for 2 steps).

37: NMR spectra were difficult to be characterized due to broadening of signals even at elevated temperature; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{52}\text{H}_{60}\text{N}_6\text{O}_{10}\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 951.4263, found 951.4252; $[\alpha]_{\text{D}}^{30}$ +249 (c 1.0, CHCl_3).

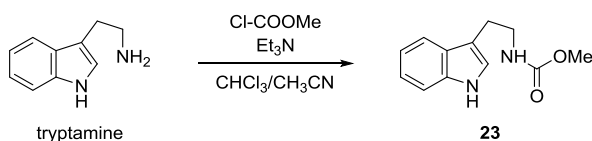
WIN 64821



Dipeptide (79 mg, 0.085 mmol) was dissolved in 4 N HCl/dioxane (2 mL, 0.04 M) at 0 °C. After being stirred at 0 °C for 15 min, the mixture was warmed up to room temperature, stirred for 2 h, and then concentrated under reduced pressure. The residue was diluted with chloroform and treated with saturated aqueous solution of NaHCO₃. The resulting mixture was extracted with chloroform, washed with brine. The combined extracts were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to produce crude tetra-amine. The crude tetra-amine was used as neat and heated at 180 °C for 15 min under nitrogen atmosphere. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford (+)-WIN 64821 (**1**) (33.2 mg, 0.050 mmol, 59%). The NMR spectra were identical to the literature data.⁴

(+)-WIN 64821 (**1**): ¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 7.34 (2H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.17-7.06 (10H, m), 6.73 (2H, t, *J* = 7.5 Hz), 6.67 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.07 (2H, s), 5.89 (2H, s), 4.87 (2H, br-s), 4.15 (2H, t, *J* = 5.3 Hz), 4.05 (2H, t, *J* = 8.6 Hz), 3.08 (2H, dd, *J* = 14.7, 5.0 Hz), 3.04-2.94 (4H, m), 2.50 (2H, dd, *J* = 14.0, 8.0 Hz); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ 169.78, 168.86, 149.94, 137.28, 131.35, 130.27, 130.07, 129.29, 127.57, 126.00, 120.15, 110.36, 80.47, 60.88, 57.68, 56.91, 36.74, 36.02; HR-MS (ESI): calcd. for C₄₀H₃₇N₆O₄ [M+H]⁺ 665.2871, found 665.2893; [α]_D²⁵ +214 (c 0.45, MeOH). The optical rotation data for (+)-WIN 64821 (**6**) reported in the literatures: [α]_D +200.0 (c 0.15, MeOH),⁵ [α]_D²¹ +230 (c 0.15, MeOH)⁴.

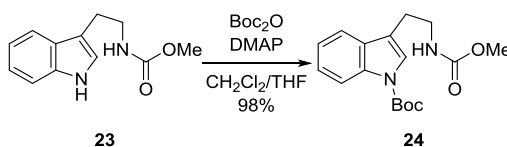
Methyl (2-(1*H*-indol-3-yl)ethyl)carbamate **23**.



A solution of tryptamine (4.01 g, 25.1 mmol) and triethyl amine (10.4 mL, 75.0 mmol) in 1:1 mixture of chloroform and acetonitrile (170 mL) was added methyl chloroformate (2.30 mL, 30.0 mmol) at 0 °C and stirred for 15 min. The solution was then heated to 35 °C and stirred for 1.5 h. After being cooled to 0 °C, the resulting reaction mixture was diluted with chloroform and treated with 1 N HCl. The combined chloroform extracts were washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford **23** (4.29 g, 19.6 mmol, 78%) as a light brown amorphous.

23: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.10 (1H, br-s), 7.61 (1H, d, *J* = 7.8 Hz), 7.37 (1H, dd, *J* = 8.1, 0.9 Hz), 7.21 (1H, m), 7.13 (1H, m), 7.03 (1H, s), 4.77 (1H, br-s), 3.67 (3H, s), 3.52 (2H, m), 2.98 (2H, t, *J* = 6.7 Hz); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 157.23, 136.57, 127.45, 122.35, 122.18, 119.64, 118.88, 113.10, 111.36, 52.16, 41.42, 25.94; HR-MS (ESI): calcd. C₁₂H₁₄N₂O₂Na [M+Na]⁺ 241.0947, found 241.0954.

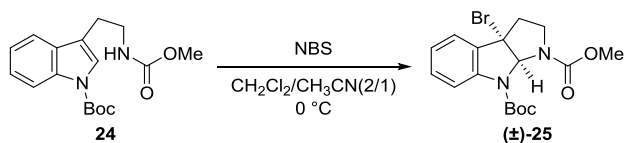
tert-Butyl 3-(2-((methoxycarbonyl)amino)ethyl)-1*H*-indole-1-carboxylate **24**



A solution of methyl carbamate **23** (773 mg, 3.54 mmol) in 2:1 mixture of dichloromethane and THF (24 mL) was treated with Boc₂O (920 mg, 4.22 mmol) and DMAP (40.3 mg, 0.33 mmol, 9 mol%). The solution was stirred at room temperature for 50 min and concentrated under reduced pressure. The resulting residue was purified by silica-gel column chromatography to afford **24** (1.11 g, 3.46 mmol, 98%) as a white amorphous.

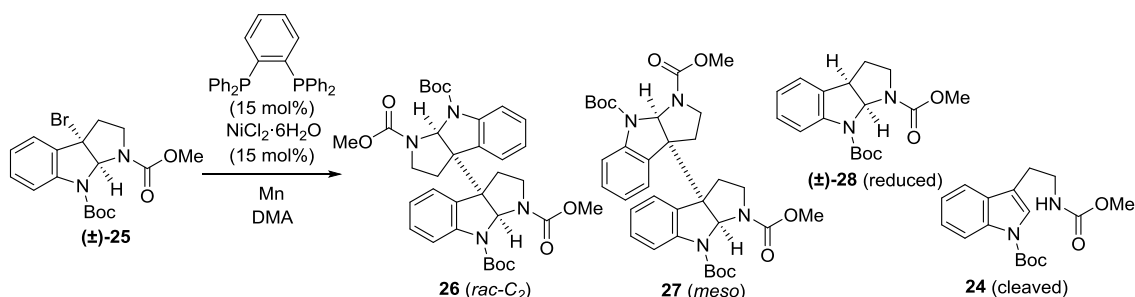
24: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 8.13 (1H, br-s), 7.54 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 7.42 (1H, s), 7.32 (1H, t, *J* = 7.3 Hz), 7.25 (1H, t, *J* = 7.2 Hz), 4.79 (1H, br-s), 3.67 (3H, s), 3.52 (2H, m), 2.91 (2H, t, *J* = 6.8 Hz), 1.67 (9H, s); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 157.16, 149.85, 135.77, 130.48, 124.67, 123.38, 122.68, 119.02, 117.67, 115.50, 83.76, 52.21, 40.80, 28.38, 25.79; HR-MS (ESI): calcd. C₁₇H₂₂N₂O₄Na [M+Na]⁺ 341.1472, found 341.1491.

Bromide 25



A solution of tryptamine derivative **24** (4.37 g, 13.7 mmol) in dichloromethane (60 mL) was treated with a solution of NBS (2.50 g, 14.1 mmol) in acetonitrile (30 mL) at 0 °C. The mixture was stirred at 0 °C for 30 min and then added saturated aqueous solution of Na₂SO₃. The resulting mixture was extracted with chloroform, and combined organic extracts were washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford bromide **25** (5.04 g, 12.7 mmol, 93%) as a white solid. **25**: ¹H NMR (500 MHz, CDCl₃): δ 7.64 (1H, d, *J* = 7.6 Hz), 7.37 (1H, dd, *J* = 7.6, 0.9 Hz), 7.30 (1H, m), 7.10 (1H, td, *J* = 7.6, 0.9 Hz), 6.38 (1H, s), 3.78 (1H, m), 3.74 (3H, s), 2.90-2.79 (2H, m), 2.75 (1H, m), 1.59 (9H, s); ¹³C NMR (125 MHz, CDCl₃): δ 154.84, 152.24, 142.10, 132.46, 130.62, 124.33, 123.82, 117.49, 84.16, 82.26, 62.22, 52.85, 46.41, 41.21, 28.38; HR-MS (ESI): calcd. C₁₇H₂₁BrN₂O₄K [M+K]⁺ 435.0316, found 435.0302.

Dimerization of bromide 25



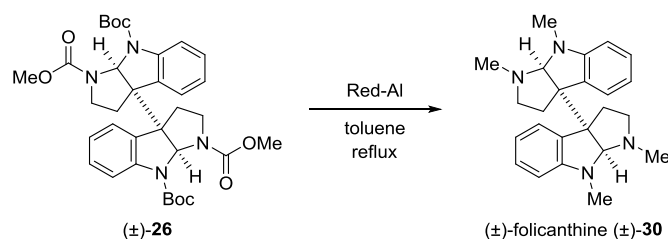
According to general procedure, bromide **25** (318 mg, 0.800 mmol) was treated with NiCl₂·6H₂O (28.5 mg, 0.120 mmol, 15 mol%), DPPBz (53.9 mg, 0.121 mmol, 15 mol%) and Mn (67.2 mg, 1.22 mmol, 1.5 eq.) in DMA (1000 μL) at 4 °C for 20 h under nitrogen atmosphere to afford C₂-**26** (ca. 25%), *meso*-**30** (ca. 30%), **28** (9%), **24** (9%).

26: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 50 $^\circ\text{C}$): δ 7.45 (2H, d, J = 7.9 Hz), 7.12-7.03 (4H, m), 6.85 (2H, td, J = 7.5, 0.8 Hz), 6.34 (2H, s), 3.83 (2H, dd, J = 11.2, 7.4 Hz), 3.73 (6H, s), 2.82 (2H, td, J = 11.4, 5.5 Hz), 2.24 (2H, td, J = 12.0, 7.6 Hz), 2.14 (2H, dd, J = 12.1, 5.4 Hz), 1.60 (18H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , 50 $^\circ\text{C}$): δ 154.99, 152.17, 143.16, 131.44, 129.18, 123.52, 123.06, 116.69, 81.97, 79.13, 60.93, 52.70, 45.46, 33.44, 28.55; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 657.2895, found 657.2920.

27: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 50 $^\circ\text{C}$): δ 7.63 (2H, d, J = 7.6 Hz), 7.24 (2H, m), 6.95 (2H, t, J = 7.3 Hz), 6.79 (2H, br-s), 6.17 (2H, s), 3.74 (2H, m), 3.71 (6H, s), 2.84 (2H, td, J = 11.5, 5.3 Hz), 2.12 (2H, dd, J = 12.0, 5.2 Hz), 1.98 (2H, m), 1.52 (18H, s); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , 50 $^\circ\text{C}$): δ 154.90, 151.94, 143.93, 131.59, 129.53, 123.57, 117.32, 81.78, 78.23, 60.49, 52.60, 45.82, 33.11, 28.38; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{34}\text{H}_{42}\text{N}_4\text{O}_8\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 657.2895, found 657.2882.

28: ^1H NMR (500 MHz, CDCl_3): δ 7.64 (1H, d, J = 7.6 Hz), 7.20 (1H, t, J = 7.7 Hz), 7.14 (1H, d, J = 7.4 Hz), 7.01 (1H, td, J = 7.5, 0.8 Hz), 6.38 (1H, d, J = 6.4 Hz), 3.99 (1H, t, J = 7.0 Hz), 3.84 (1H, dd, J = 11.2, 7.5 Hz), 3.73 (3H, s), 2.89 (1H, td, J = 11.6, 5.7 Hz), 2.14 (1H, m), 2.07 (1H, dd, J = 12.3, 5.5 Hz), 1.57 (9H, s); ^{13}C NMR (125 MHz, CDCl_3): δ 155.43, 152.63, 143.04, 131.94, 128.27, 123.91, 123.33, 116.34, 81.60, 76.48, 52.63, 45.49, 45.11, 31.37, 28.49; HR-MS (ESI): calcd. $\text{C}_{17}\text{H}_{22}\text{N}_2\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 341.1472, found 341.1485.

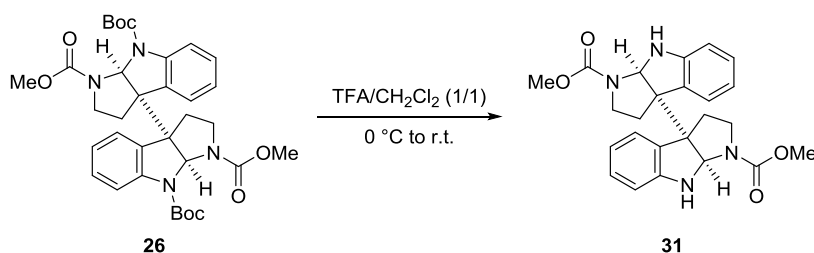
C_2 -folicanthine



A solution of **26** (127 mg, 0.200 mmol) in toluene (2.85 mL) was treated with a 3.3 M toluene solution of sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminum hydride (Red-Al) (950 μL , 3.14 mmol, 15.7 eq.) at room temperature. The mixture was then heated to reflux for 2 h. After being cooled to room temperature, excess reagent was quenched by slow addition of 2 M ammonia dissolved in methanol and dichloromethane (1/9). The resulting mixture was concentrated under reduced pressure and filtered through a pad of amino silica-gel. The filtrate was concentrated under reduced pressure, and the resulting residue was purified by silica-gel column chromatography (dichloromethane/2 M ammonia in methanol) to afford C_2 -folicanthine ($\pm$)-**30** (60.2 mg, 0.161 mmol, 81%) as a white powder. The NMR spectra were identical to the literature data.⁶

(±)-**30**: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 50 °C): δ 6.99 (2H, t, J = 7.7 Hz), 6.95 (2H, d, J = 7.4 Hz), 6.52 (2H, t, J = 7.4 Hz), 6.28 (2H, d, J = 7.8 Hz), 4.41 (2H, br-s), 3.00 (6H, s), 2.67 (2H, br-s), 2.51-2.34 (10H, m), 1.97 (2H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , 50 °C): δ 153.02, 132.72, 128.41, 123.96, 116.98, 106.15, 92.22, 62.90, 52.90, 37.99, 35.43, 35.35; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 375.2543, found 375.2556.

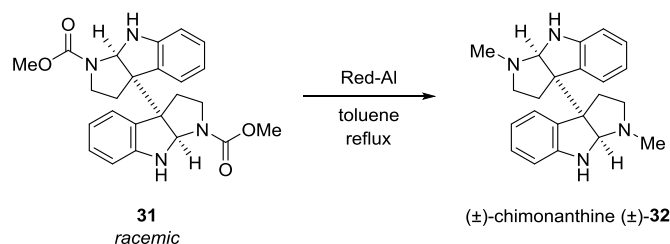
C_2 -dianiline **31**



Trifluoroacetic acid (TFA, 3.7 mL) was slowly added to a stirred solution of C_2 -dimer **18** (236 mg, 0.372 mmol) in dichloromethane (3.7 mL) at 0 °C. The mixture was stirred for 15 min at 0 °C and then warm up to room temperature. After being stirred for 2 h, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was diluted with chloroform and then treated with saturated aqueous solution of NaHCO_3 . The combined chloroform extracts were washed with brine, dried over Na_2SO_4 , filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford **31** (131 mg, 0.301 mmol, 81%) as a white solid. The NMR spectra were identical to the literature data.⁶

31: ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 95 °C): δ 7.23 (2H, d, J = 7.4 Hz), 7.02 (2H, t, J = 7.5 Hz), 6.64 (2H, t, J = 7.4 Hz), 6.59 (2H, d, J = 7.8 Hz), 4.91 (2H, s), 3.61-3.45 (8H, m), 2.75 (2H, td, J = 10.8, 5.9 Hz), 2.52 (2H, m), 2.12 (2H, dd, J = 12.4, 5.8 Hz); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO, 95 °C): δ 153.48, 150.45, 128.14, 128.01, 124.05, 116.98, 108.29, 77.48, 60.94, 51.34, 44.28, 31.78; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_4\text{Na}$ $[\text{M}+\text{Na}]^+$ 457.1846, found 457.1853.

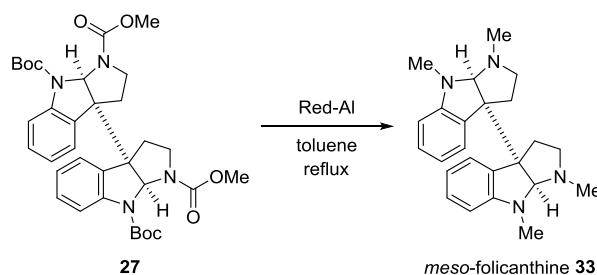
C_2 -chimonanthine **32**



A solution of C_2 -dianiline (57.3 mg, 0.132 mmol) in toluene (1.9 mL) was treated with a 3.3 M toluene solution of sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminum hydride (Red-Al) (420 μ L, 1.39 mmol, 10.5 eq.) at room temperature. The mixture was then heated to reflux for 1.5 h. After being cooled to room temperature, excess reagent was quenched by slow addition of 2 M ammonia dissolved in methanol and dichloromethane (1/9). The resulting mixture was concentrated under reduced pressure and filtered through a pad of amino silica-gel. The filtrate was concentrated under reduced pressure, and the resulting residue was purified by silica-gel column chromatography (dichloromethane/2 M ammonia in methanol) to afford C_2 -chimonanthine ($\pm$)-**32** (40.7 mg, 0.117 mmol, 89%) as a white powder. The NMR spectra were identical to the literature data.⁶

($\pm$)-**32**: ^1H NMR (400 MHz, CDCl_3 , 50 $^\circ\text{C}$): δ 7.18 (2H, d, J = 7.4 Hz), 6.98 (2H, t, J = 7.5 Hz), 6.65 (2H, t, J = 7.4 Hz), 6.53 (2H, d, J = 7.7 Hz), 4.39 (2H, br-s), 4.23 (2H, br-s), 2.61-2.45 (6H, m), 2.32 (6H, s), 2.06 (2H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, CDCl_3 , 50 $^\circ\text{C}$): δ 150.97, 133.61, 128.19, 124.58, 118.73, 109.35, 85.44, 63.70, 52.87, 37.30, 35.91; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{22}\text{H}_{27}\text{N}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 347.2230, found 347.2256.

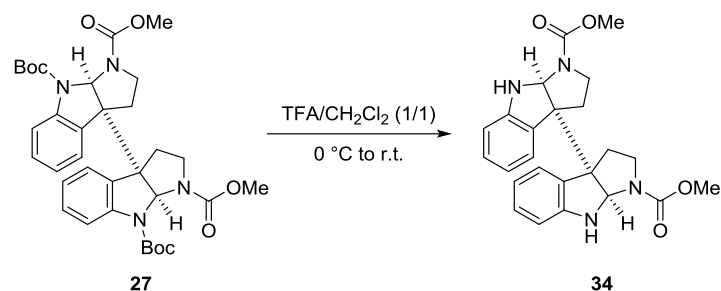
meso-folicanthine (*meso*-**33**).



A solution of *meso*-dimer **27** (128 mg, 0.202 mmol) in toluene (2.9 mL) was treated with a 3.3 M toluene solution of sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminum hydride (Red-Al) (950 μ L, 3.14 mmol, 15.5 eq.) at room temperature. The mixture was then heated to reflux for 2 h. After being cooled to room temperature, excess reagent was quenched by slow addition of 2 M ammonia dissolved in methanol and dichloromethane (1/9). The resulting mixture was concentrated under reduced pressure and filtered through a pad of amino silica-gel. The filtrate was concentrated under reduced pressure, and the resulting residue was purified by silica-gel column chromatography (dichloromethane/2 M ammonia in methanol) to afford *meso*-folicanthine **33**⁷ (64.4 mg, 0.172 mmol, 85%) as a white powder.

meso-**33**: ^1H NMR (400 MHz, DMSO, 100 $^\circ\text{C}$): δ 7.00 (2H, t, J = 7.9 Hz), 6.50-6.28 (6H, m), 4.09 (2H, br-s), 2.75 (2H, m), 2.59 (6H, s), 2.42-2.26 (10H, m), 1.91 (2H, m); ^{13}C NMR (100 MHz, DMSO, 100 $^\circ\text{C}$): δ 153.65, 132.47, 127.45, 123.00, 116.22, 106.29, 90.73, 62.26, 51.55, 35.65, 35.45, 35.02; HR-MS (ESI): calcd. for $\text{C}_{24}\text{H}_{31}\text{N}_4$ $[\text{M}+\text{H}]^+$ 375.2543, found 375.2544.

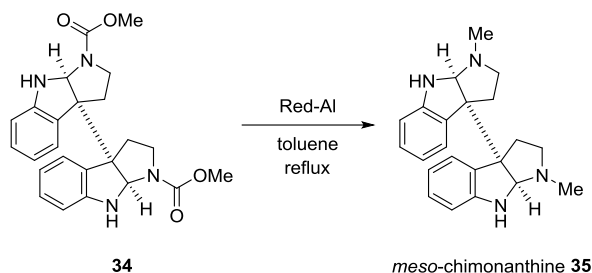
meso-dianiline **34**



Trifluoroacetic acid (TFA, 7 mL) was slowly added to a stirred solution of *meso*-dimer **27** (442 mg, 0.696 mmol) in dichloromethane (7 mL) at 0 °C. The mixture was stirred for 10 min at 0 °C and then warm up to room temperature. After being stirred for 1.5 h, the resulting mixture was concentrated under reduced pressure. The residue was diluted with chloroform and then treated with saturated aqueous solution of NaHCO₃. The combined chloroform extracts were washed with brine, dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford **34** (245 mg, 0.563 mmol, 81%) as a pale yellow amorphous. The NMR spectra were identical to the literature data.⁸

34: ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 100 °C): δ 6.97 (2H, t, *J* = 7.7 Hz), 6.60 (2H, m), 6.52-6.44 (4H, m), 6.01 (2H, s), 5.32 (2H, s), 3.70-3.59 (8H, m), 2.83 (2H, m), 2.34-2.16 (4H, m); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO, 100 °C): δ 153.60, 150.32, 128.47, 127.92, 127.88, 123.20, 116.74, 107.80, 76.48, 61.46, 51.38, 44.27, 33.31; HR-MS (ESI): calcd. C₂₄H₂₆N₄O₄Na [M+Na]⁺ 457.1846, found 457.1853.

meso-chimonanthine **35**



A solution of *meso*-dianiline **34** (60.6 mg, 0.139 mmol) in toluene (2.0 mL) was treated with a 3.3 M toluene solution of sodium bis(2-methoxyethoxy)aluminum hydride (Red-Al) (450 μ L, 1.49 mmol, 10.7 eq) at room temperature. The mixture was then heated to reflux for 1.5 h. After being cooled to room temperature, excess reagent was quenched by slow addition of 2 M ammonia dissolved in methanol and dichloromethane (1/9). The resulting mixture was concentrated under reduced pressure and filtered through a pad of amino silica-gel. The filtrate was concentrated under reduced pressure, and the resulting residue was purified by silica-gel column chromatography (dichloromethane/2 M ammonia in methanol) to afford *meso*-chimonanthine **35** (42.8 mg, 0.123 mmol, 89%) as a white powder. The NMR spectra were identical to the literature data.⁸

meso-2: ¹H NMR (400 MHz, DMSO, 100 $^{\circ}$ C): δ 6.88 (2H, m), 6.63-6.30 (6H, m), 5.66 (2H, br-s), 4.61 (2H, br-s), 2.74 (2H, m), 2.46 (2H, m), 2.38-2.25 (8H, m), 1.92 (2H, dd, J = 10.8, 4.8 Hz); ¹³C NMR (100 MHz, DMSO, 100 $^{\circ}$ C): δ 152.03, 132.33, 126.88, 123.28, 115.72, 106.77, 82.52, 62.59, 51.17, 36.27, 34.92; HR-MS (ESI): calcd. for C₂₂H₂₇N₄ [M+H]⁺ 347.2230, found 347.2248.

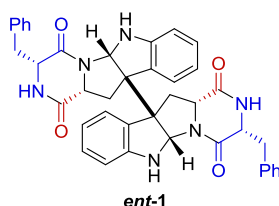
General procedure for the synthesis of C₂ dipeptides

Iodotrimethylsilane (8-10 eq.) was added dropwisely to a solution of the C₂-dimerin acetonitrile (0.05-0.07 M) at 0 °C. The resulting solution was stirred at 0 °C for 90 min and then treated with saturated aqueous solution of Na₂SO₃. The resulting mixture was extracted with chloroform 4-5 times. Combined extracts were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to afford crude tetra-amine as a yellow amorphous. The crude tetra-amine was subjected to the next reaction without further purification. To a solution of Boc-aminoacids (2.5-3.0 eq.), HOAt (3.0~3.5 eq.), HATU (3.0~3.5 eq.), and 2,6-lutidine (10-15 eq.) in DMF (~ 0.05 M) was added the solution of the crude tetra-amine in DMF at 0 °C. After being warmed up to room temperature, the mixture was stirred for 5-10 h. The solution was diluted with AcOEt and treated with saturated aqueous solution of NH₄Cl. After separation of organic layer, the aqueous phase was extracted with AcOEt. Combined organic extracts were washed with saturated aqueous solution of NaHCO₃, H₂O x3, and brine. The extract was dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford dipeptide.

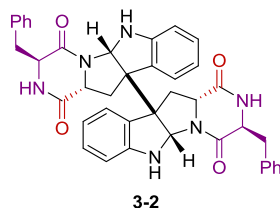
dipeptides: NMR spectra were difficult to be characterized due to broadening of signals even at elevated temperature

General procedure for the synthesis of 11,11'-*endo*C₂ diketopiperazines

Dipeptide was dissolved in 4 N HCl/dioxane (0.04 M) at 0 °C. After being stirred at 0 °C for 15 min, the mixture was warmed up to room temperature, stirred for 2 h, and then concentrated under reduced pressure. The residue was diluted with chloroform and treated with saturated aqueous solution of NaHCO₃. The resulting mixture was extracted with chloroform, washed with brine. The combined extracts were dried over Na₂SO₄, filtered, and concentrated under reduced pressure to produce crude tetra-amine. The crude tetra-amine was used as neat and heated at 180 °C for 15 min under nitrogen atmosphere. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford diketopiperazine.



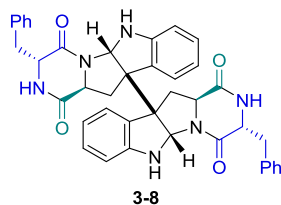
ent-WIN 64821 (*ent*-1): ¹H NMR (500 MHz, CD₃CN): δ 7.34 (2H, d, *J* = 7.5 Hz), 7.17-7.06 (10H, m), 6.73 (2H, t, *J* = 7.5 Hz), 6.67 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.07 (2H, s), 5.89 (2H, s), 4.87 (2H, br-s), 4.15 (2H, t, *J* = 5.3 Hz), 4.05 (2H, t, *J* = 8.6 Hz), 3.08 (2H, dd, *J* = 14.7, 5.0 Hz), 3.04-2.94 (4H, m), 2.50 (2H, dd, *J* = 14.0, 8.0 Hz); ¹³C NMR (125 MHz, CD₃CN): δ 169.78, 168.86, 149.94, 137.28, 131.35, 130.27, 130.07, 129.29, 127.57, 126.00, 120.15, 110.36, 80.47, 60.88, 57.68, 56.91, 36.74, 36.02



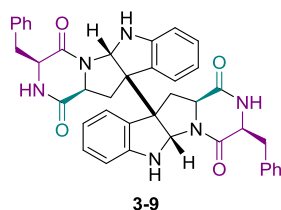
3-2: ¹H NMR(400 MHz, CD₃CN) □ 7.25 (2H, t, *J* = 7.4 Hz), 7.17-7.02 (16H, m), 6.73 (2H, t, *J* = 7.3 Hz), 6.66 (2H, d, *J* = 5.0 Hz), 6.38 (2H, d, *J* = 2.3 Hz), 5.87 (2H, s), 4.04 (2H, dd, *J* = 8.6, 4.4 Hz), 3.09 (2H, dd, *J* = 13.6, 4.4 Hz), 2.80 (2H, dd, *J* = 13.6, 4.6 Hz), 2.30 (2H, t, *J* = 8.6 Hz), 2.21 (2H, dd, *J* = 13.4, 9.4 Hz); ¹³C NMR(100 MHz, DMSO) □ 168.0, 167.4, 148.8, 148.8, 135.5, 130.5, 129.4, 128.6, 128.6, 128.5, 127.4, 109.0, 78.7, 58.6, 58.5, 57.7, 56.0, 54.4.

General procedure for the synthesis of 11,11'-*exoC*₂ diketopiperazines

Dipeptide was suspended in H₂O (0.05 M). Resulting suspension was heated 195 °C with microwave irradiation for 5 min, and then concentrated under reduced pressure. The residue was purified by silica-gel column chromatography to afford diketopiperazine.



3-8: ¹H NMR(400 MHz, CD₃CN) □ 7.17 (2H, td, *J* = 7.6, 1.1 Hz), 7.03-6.98 (6H, m), 6.91-6.83 (6H, m), 6.76 (2H, d, *J* = 7.7 Hz), 6.68 (2H, td, *J* = 7.5, 0.9 Hz), 6.44 (2H, d, *J* = 3.4 Hz), 5.52 (2H, br-s), 4.84 (2H, s), 4.03 (2H, dd, *J* = 8.4, 3.8 Hz), 3.05 (2H, dd, *J* = 13.6, 3.6 Hz), 2.79 (2H, dd, *J* = 13.6, 5.1 Hz), 1.90 (2H, d, *J* = 11.4, 5.9 Hz)



3-9: ¹H NMR(400 MHz, CD₃CN) □ 7.35-7.31 (4H, m), 7.29-7.25 (2H, m), 7.22-7.17 (6H, m), 7.13 (2H, td, *J* = 7.6, 1.1 Hz), 6.73 (2H, td, *J* = 7.5, 1.0 Hz), 6.66 (2H, d, *J* = 7.8 Hz), 6.02 (2H, br-s), 5.48 (2H, s), 5.08 (2H, s), 4.27-4.24 (2H, m), 3.77-3.72 (2H, m), 3.14 (2H, dd, *J* = 14.5, 4.9 Hz), 3.04 (2H, dd, *J* = 14.4, 6.3 Hz), 2.37 (2H, dd, *J* = 12.5 Hz, 5.9), 2.29-2.23 (2H, m); ¹³C NMR(100 MHz, CD₃CN) □ 168.8, 166.3, 151.9, 137.5, 130.5, 130.4, 129.6, 128.2, 127.9, 126.2, 119.6, 110.3, 79.1, 59.9, 59.1, 56.8, 36.9, 36.9

4-4 Biological assay

Analysis of Cell Proliferation:

HCT116 cells were seeded at density of 2,000 cells per well in 96-well plate (Falcon) with 100 μ L of RPMI-1640 medium supplemented with penicillin, streptomycin and 10% FBS. After overnight culture, cells were treated with an appropriate concentration range of compounds (100 μ L) and cultured for 72 h at 37 °C in 5% CO₂. Then 10 μ L of WST-8 (Cell Counting Kit-8, Dojindo) was added to measure viable cells. IC₅₀ values were calculated using percent of growth versus DMSO treated control.

References

- ¹ a) de Lera, Á. R.; Pérez-Balado, C. *Org. Lett.* **2008**, *10*, 3701. b) Pérez-Balado, C.; Rodríguez-Graña, P.; de Lera, Á. R. *Chem. Eur. J.* **2009**, *15*, 9928.
 - ² Espejo, V. R.; Rainier, J. D. *J. Am. Chem. Soc.* **2008**, *130*, 12894.
 - ³ Matyjaszewski, K.; Woodworth, B. E.; Zhang, X.; Gaynor, S. G.; Metzner, Z. *Macromolecules*, **1998**, *31*, 5955.
 - ⁴ Movassaghi, M.; Schmidt, M. A.; Ashenhurst, J. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2008**, *47*, 1485.
 - ⁵ Barrow, C. J.; Cai, P.; Synder, J. K.; Sedlok, D. M.; Sun, H. H.; Cooper, R. *J. Org. Chem.* **1993**, *58*, 6016.
 - ⁶ a) Movassaghi, M.; Schmidt, M. A. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2007**, *46*, 3725. b) Mitsunuma, H.; Shibasaki, M.; Kanai, M.; Matsunaga, S. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *51*, 5217.
 - ⁷ a) Matsuda, Y.; Kitajima, M.; Takayama, H. *Heterocycles*, **2005**, *65*, 1031. b) 松田洋平 千葉大学大学院薬学研究院 博士論文 **2008**
 - ⁸ Snell, R. H.; Woodward, R. L.; Willis, M. C. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2011**, *50*, 9116.
- Nakamura ligands
- a) Hatakeyama, T.; Hashimoto, T.; Kondo, Y.; Fujiwara, Y.; Seike, H.; Takaya, H.; Tamada, Y.; Ono, T.; Nakamura, M.; *J. Am. Chem. Soc.*, **2010**, *132*, 10674.; b) Hatakeyama, T.; Okada, Y.; Yoshimoto, Y.; Nakamura, M. *Angew. Chem. Int. Ed.*, **2011**, *50*, 10973.; c) Jin, M.; Nakamura, M. *Chem. Lett.*, **2011**, *40*, 1012.; d) Hatakeyama, T.; Fujiwara, Y.; Okada, Y.; Itoh, T.; Hashimoto, T.; Kawamura, S.; Ogata, K.; Takaya, H.; Nakamura, M. *Chem. Lett.*, **2011**, *40*, 1030.; e) Hashimoto, T.; Hatakeyama, T.; Nakamura, M. *J. Org. Chem.*, **2012**, *77*, 1168.; f) Kawamura, S.; Nakamura, M. *Chem. Lett.*, **2013**, *42*, 183-185.

The ^1H , ^{13}C NMR spectra of synthetic compounds

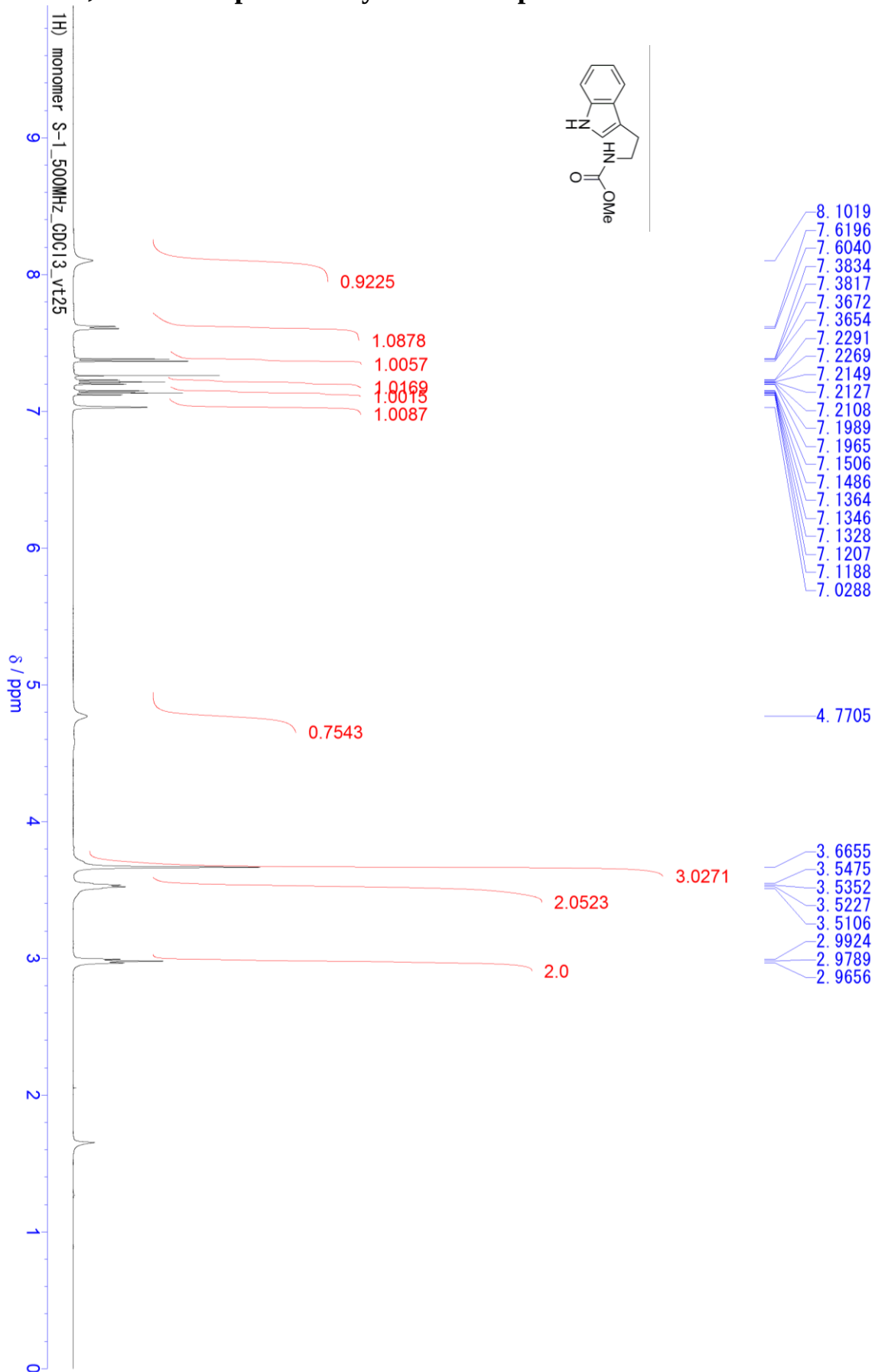


Figure S1. A ^1H -NMR spectrum of **23** in CDCl_3

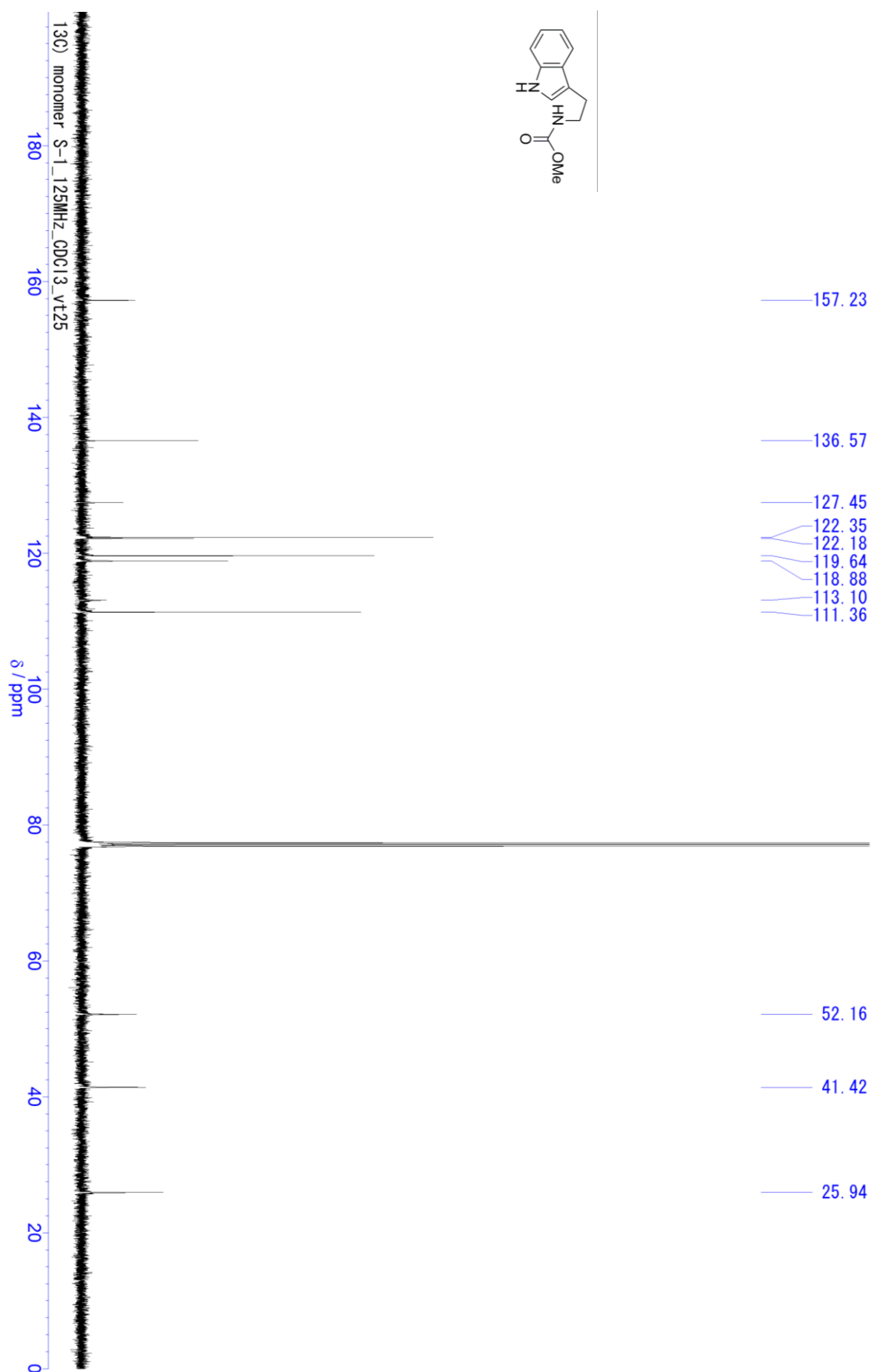


Figure S2. A ¹³C-NMR spectrum of **23** in CDCl₃

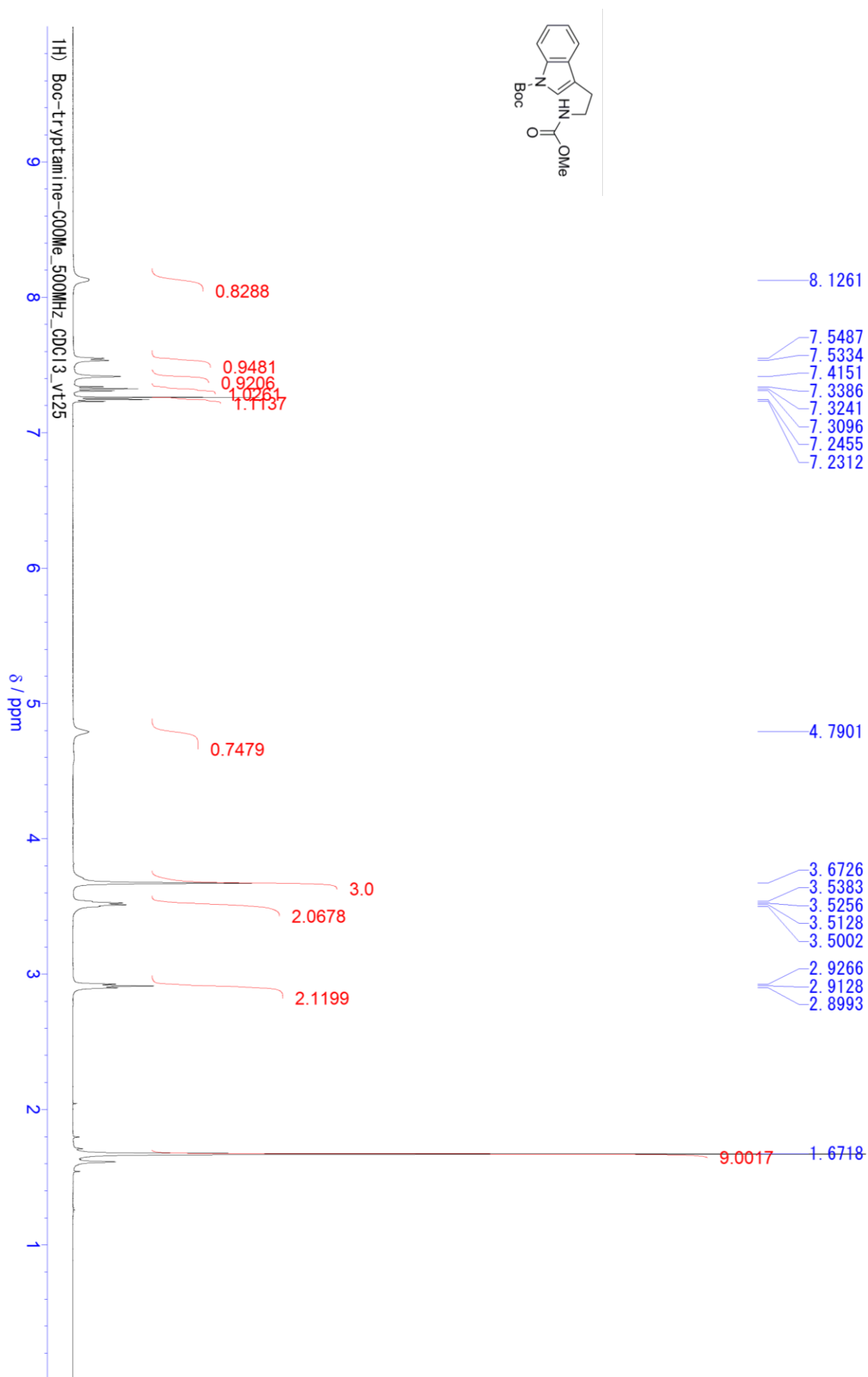


Figure S3. A ¹H-NMR spectrum of **24** in CDCl₃

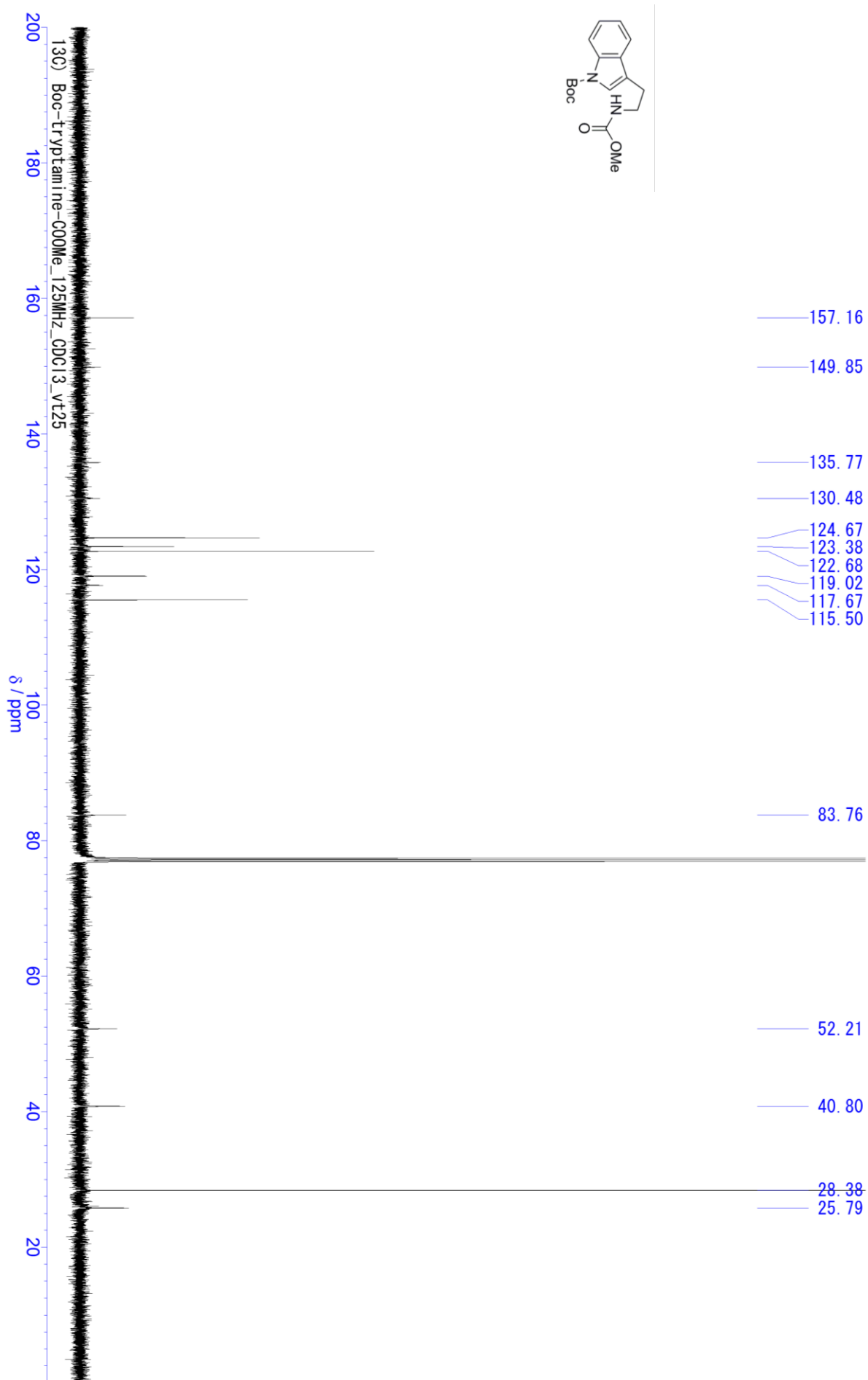


Figure S4. A ^{13}C -NMR spectrum of **24** in CDCl_3

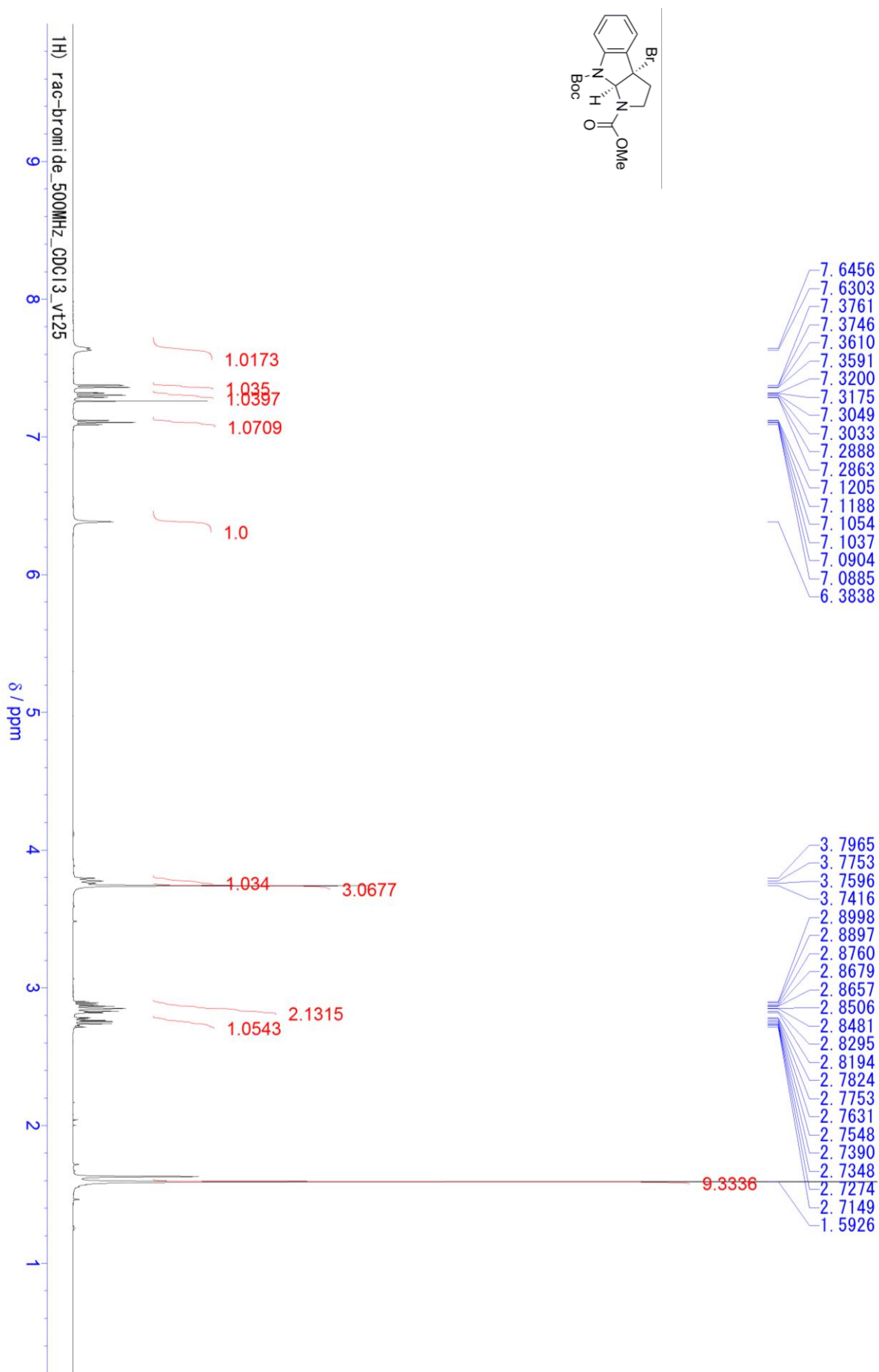


Figure S5. A ¹H-NMR spectrum of 25 in CDCl₃

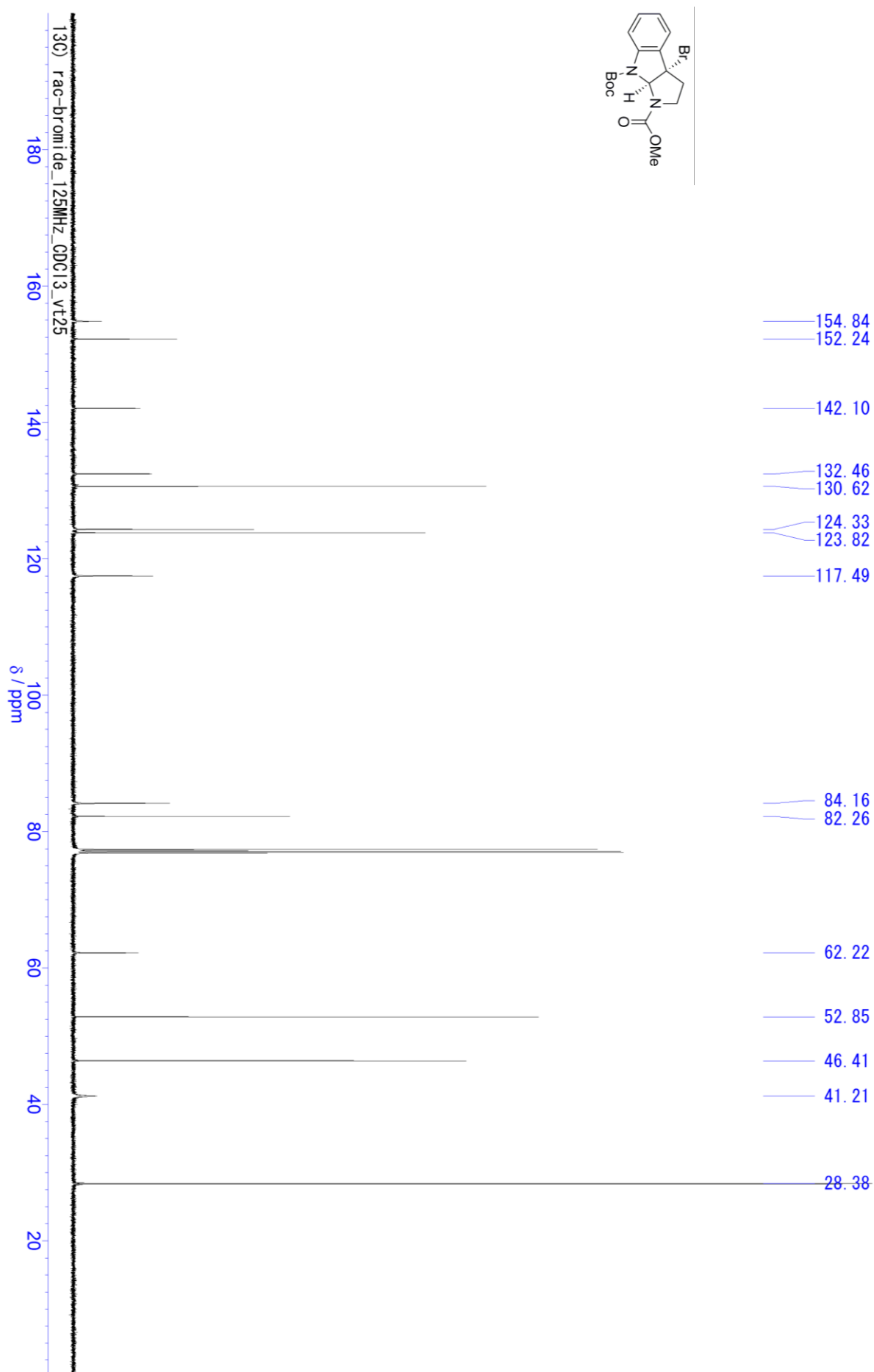


Figure S6. A ¹³C-NMR spectrum of **25** in CDCl₃

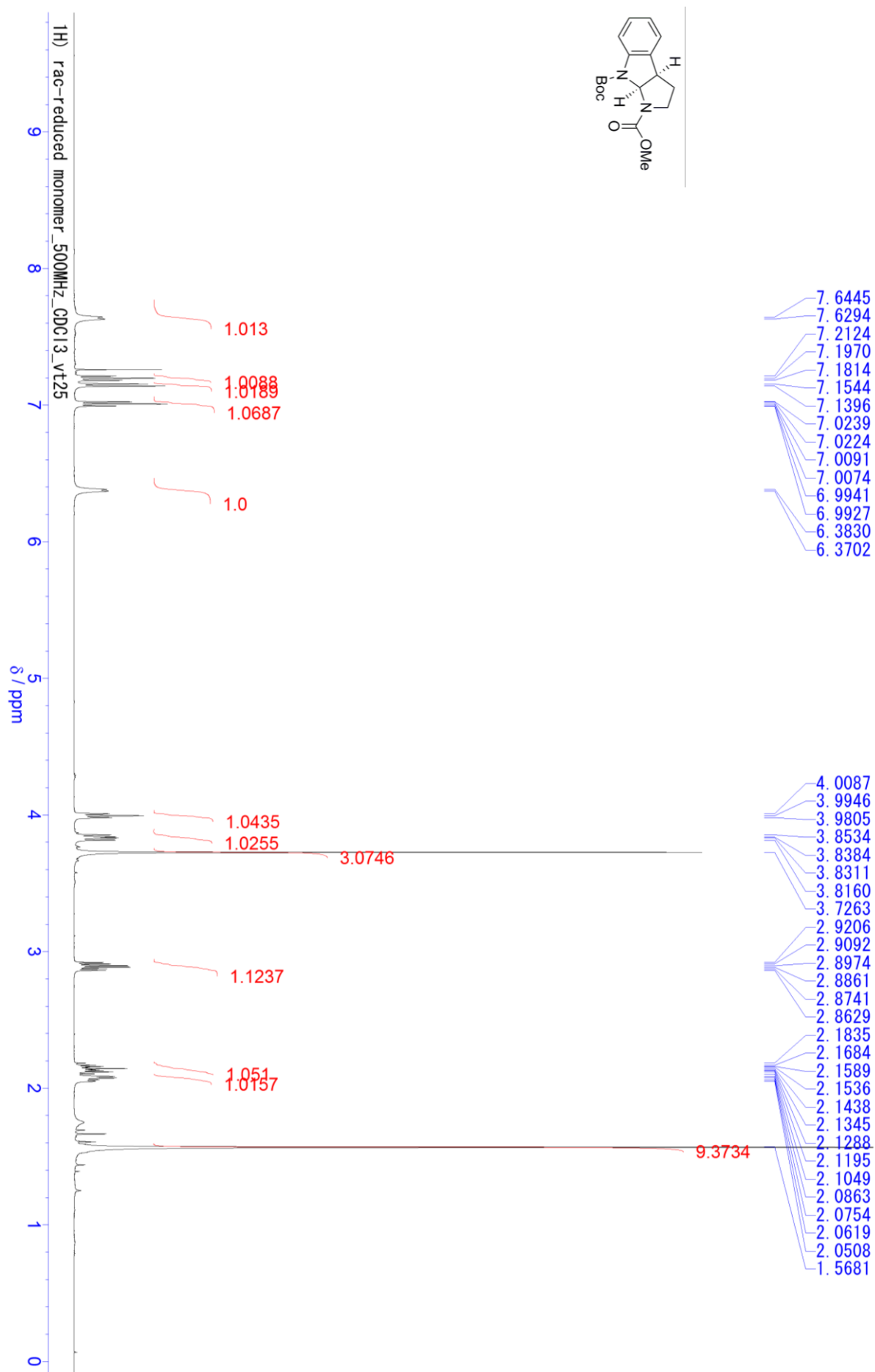


Figure S7. A ^1H -NMR spectrum of **28** in CDCl_3

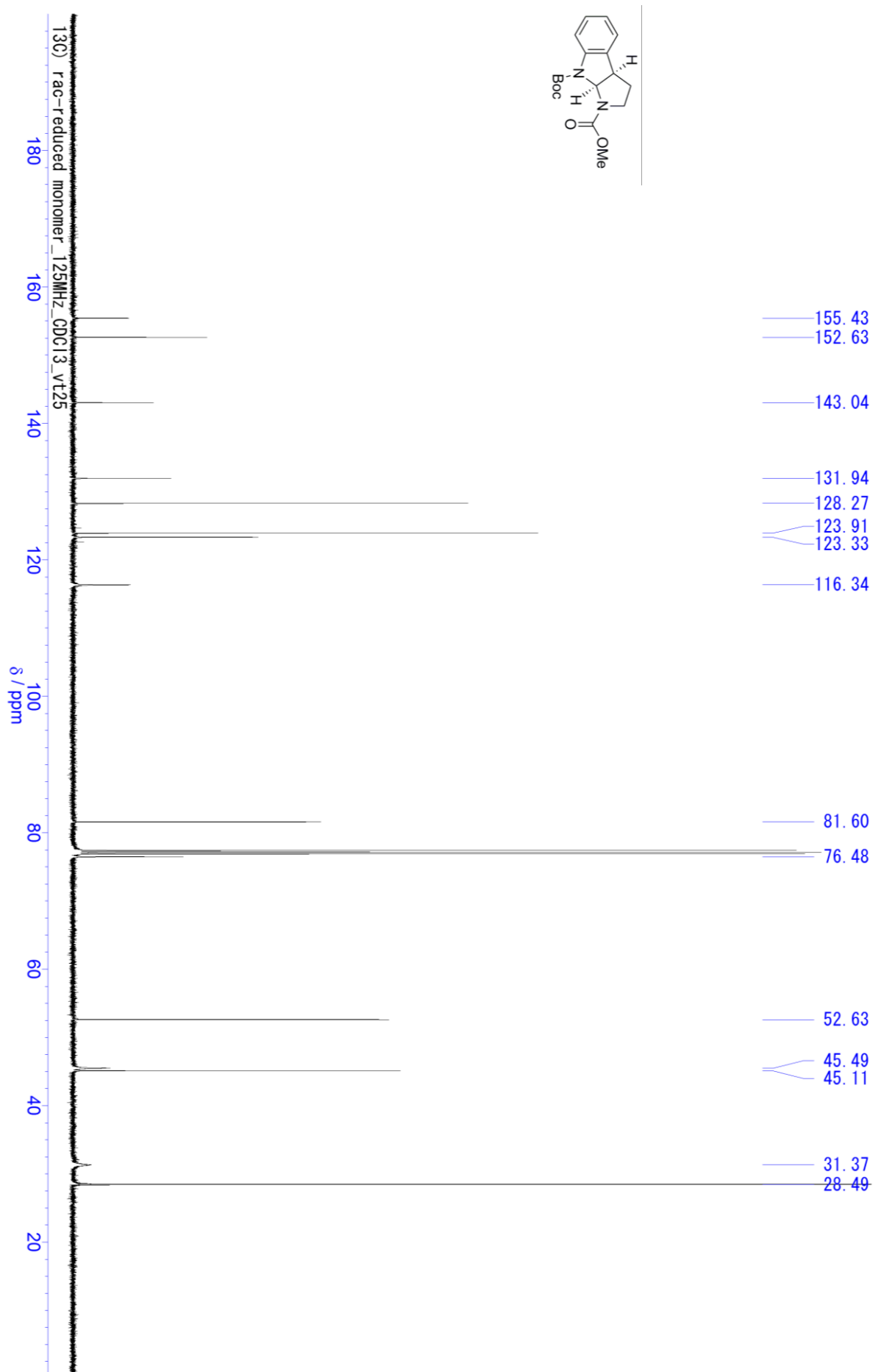


Figure S8. A ¹³C-NMR spectrum of **28** in CDCl₃

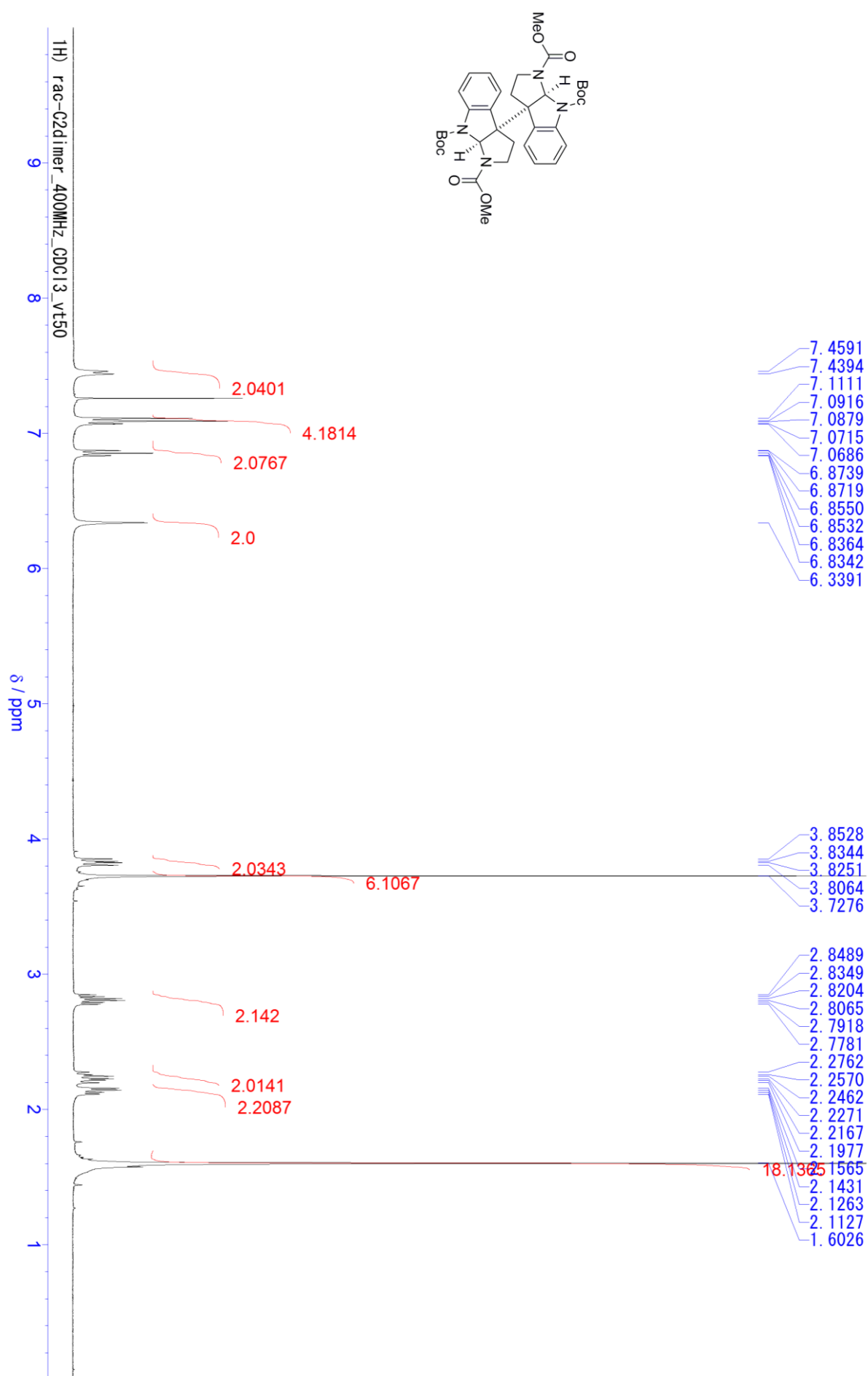


Figure S9. A ¹H-NMR spectrum of **26** in CDCl₃

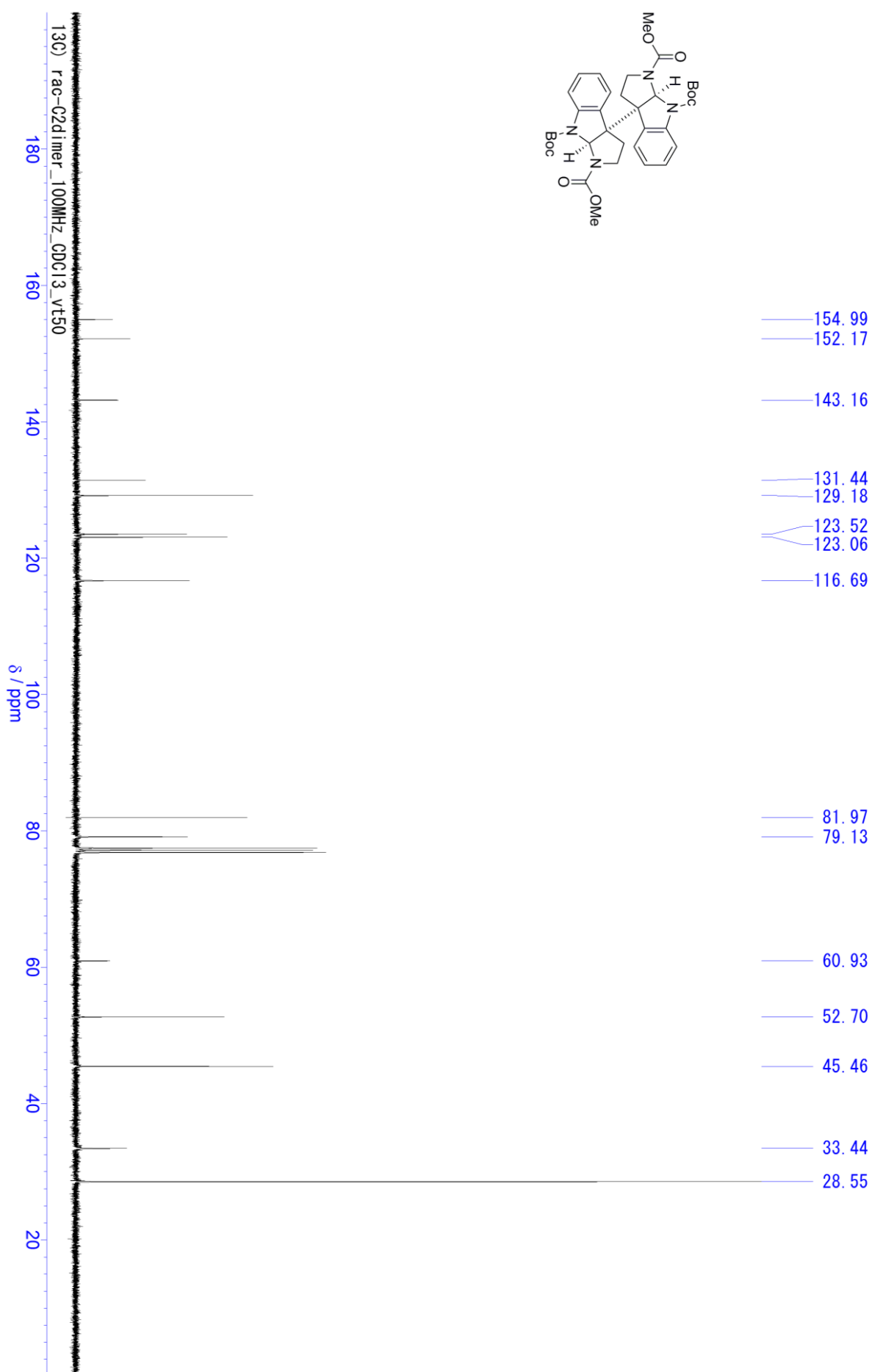


Figure S10. A ¹³C-NMR spectrum of **26** in CDCl₃

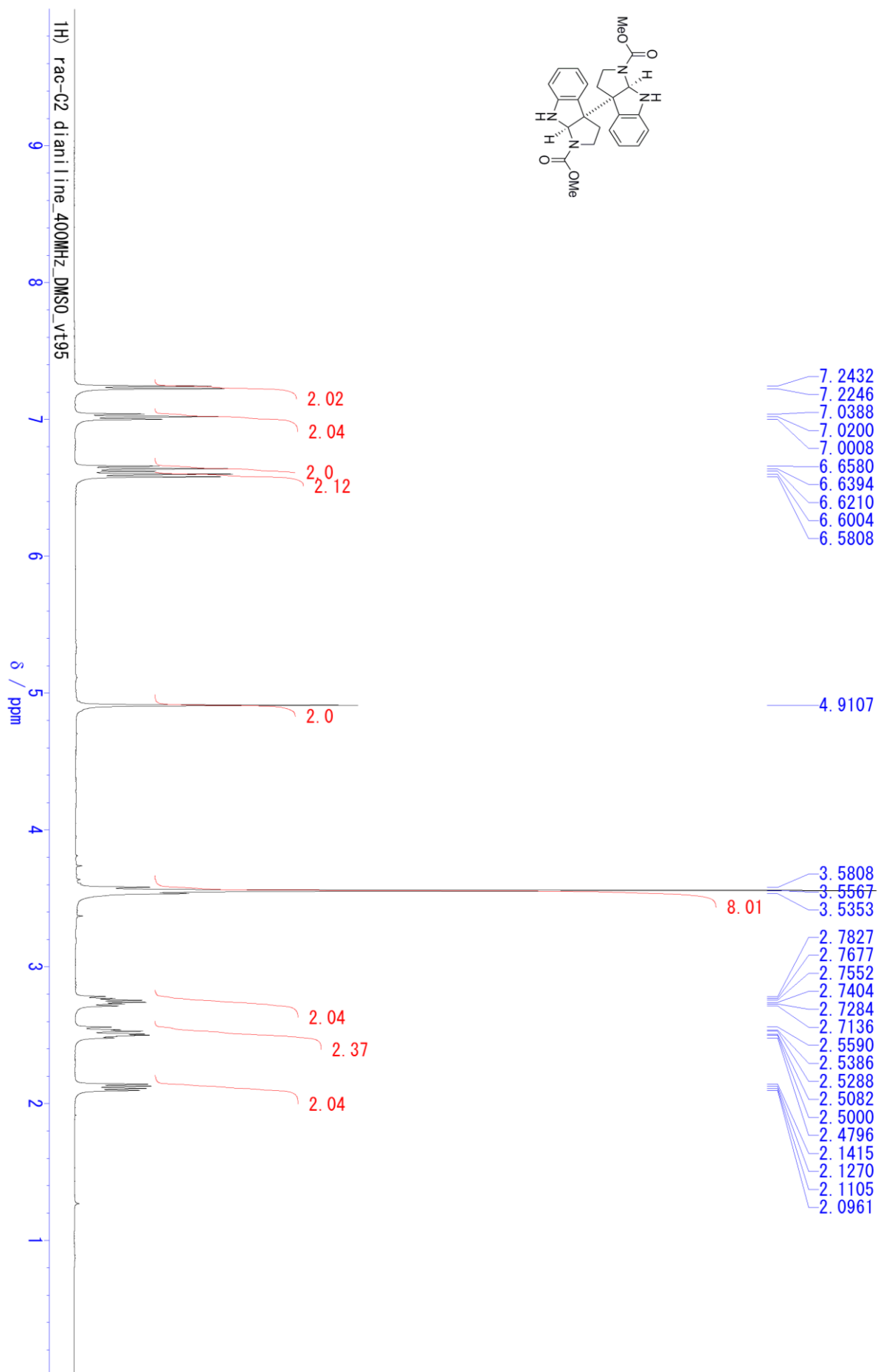


Figure S11. A ¹H-NMR spectrum of **31** in DMSO

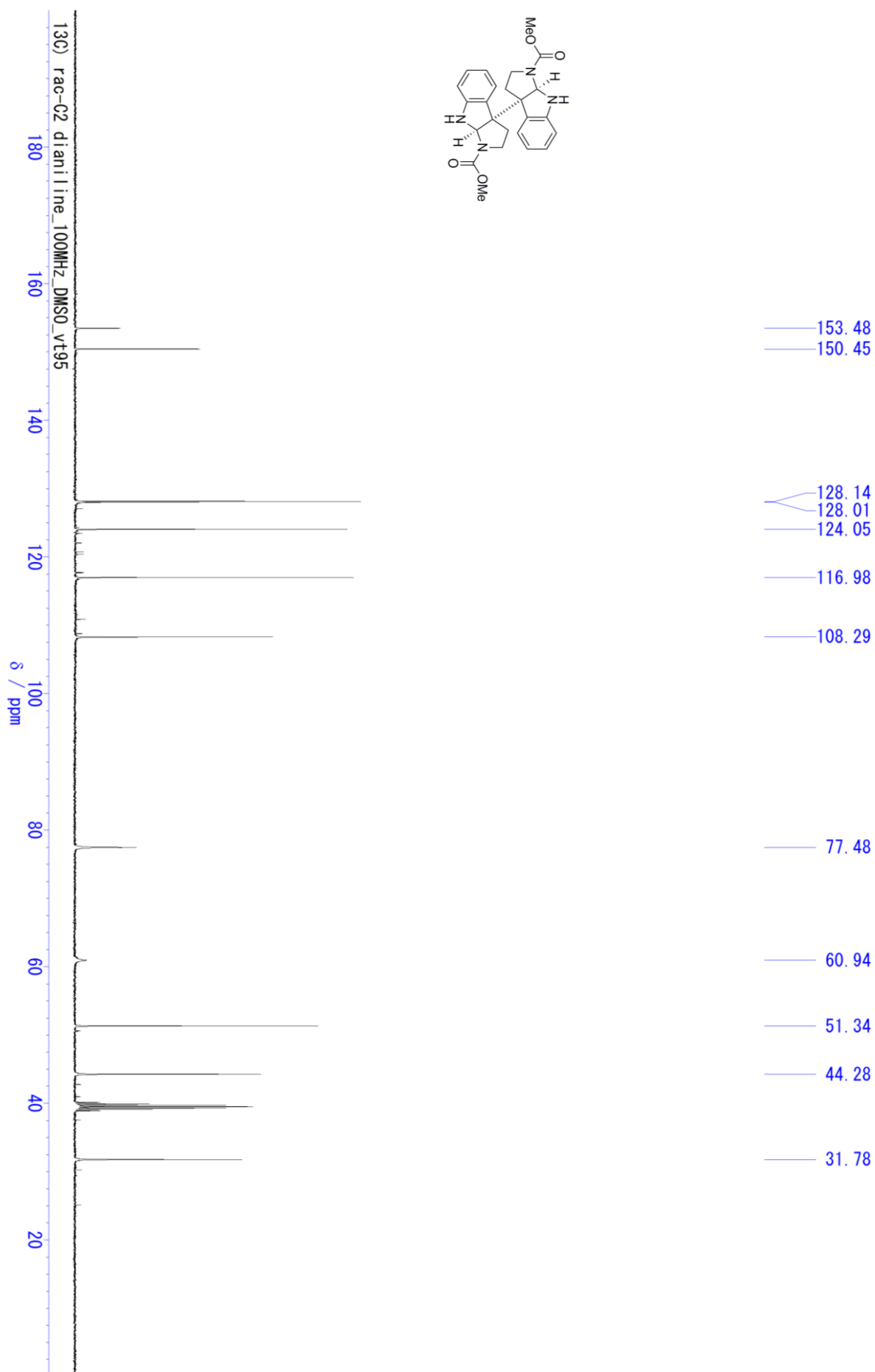


Figure S12. A ¹³C-NMR spectrum of **31** in DMSO

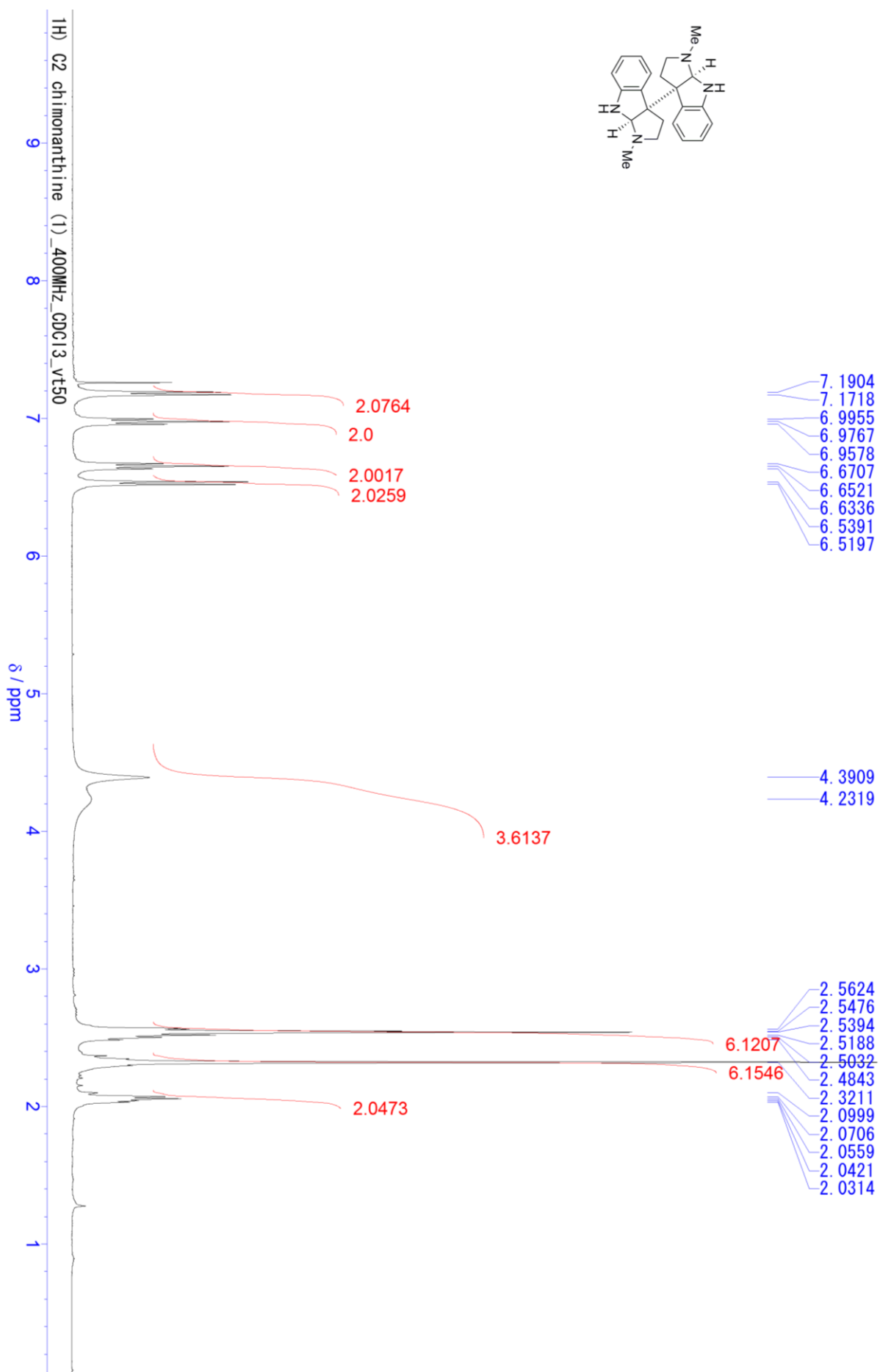


Figure S13. A ¹H-NMR spectrum of (±)-chimonanthine in CDCl₃

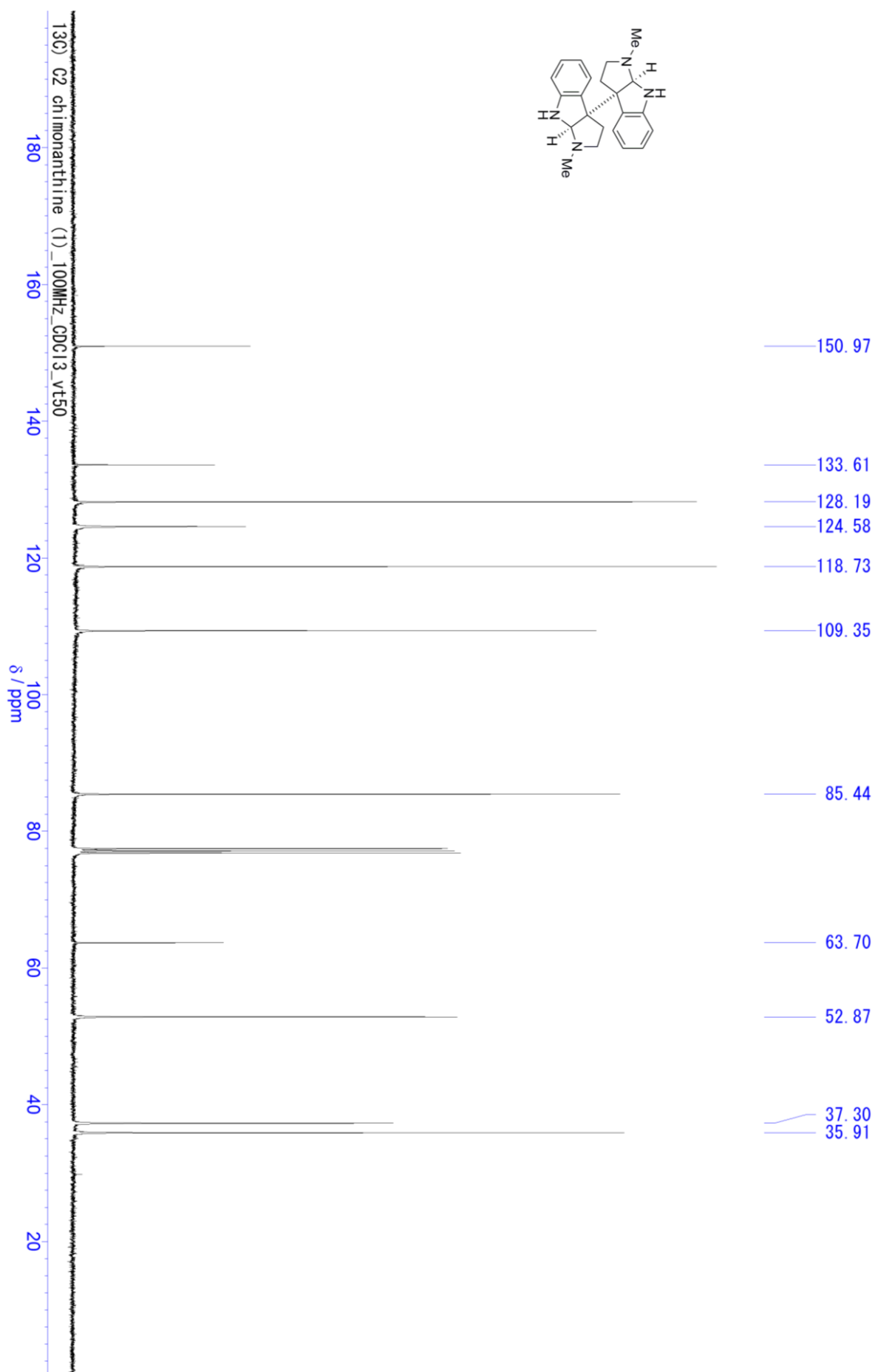


Figure S14. A ¹³C-NMR spectrum of (±)-chimonanthine in CDCl₃

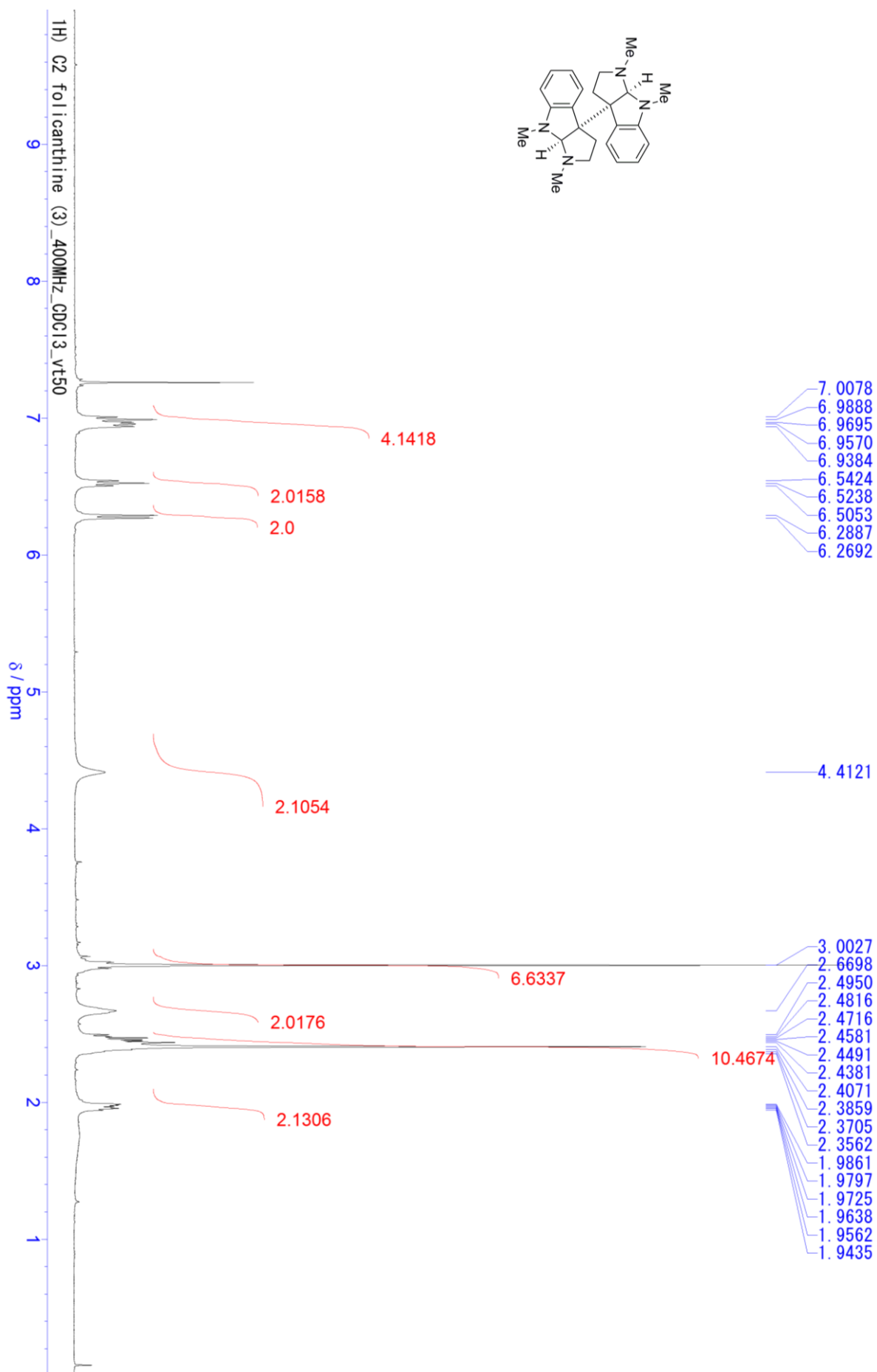


Figure S15. A ^1H -NMR spectrum of ($\pm$)-folicanthine in CDCl_3

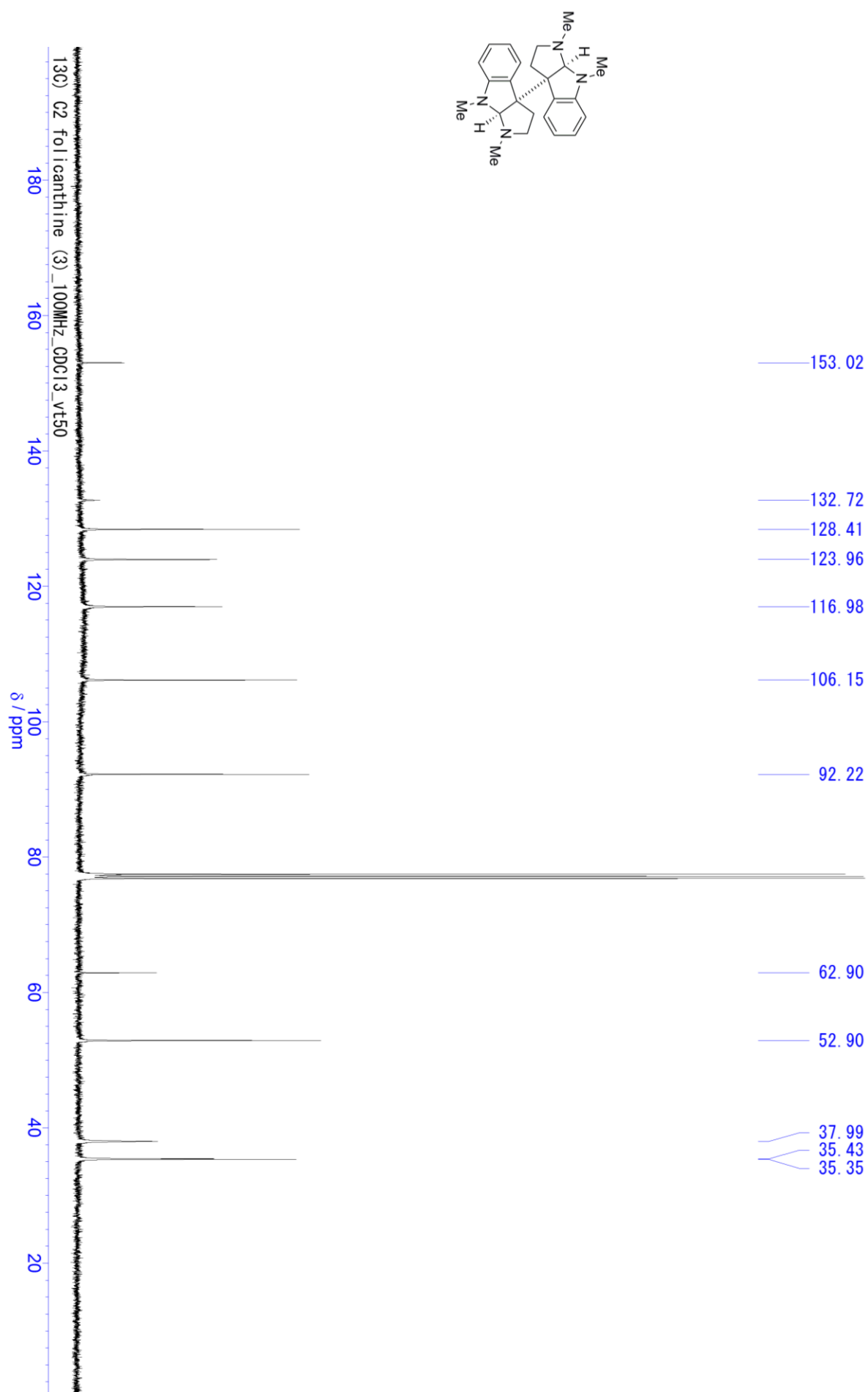


Figure S16. A ¹³C-NMR spectrum of (±)-folicanthine in CDCl₃

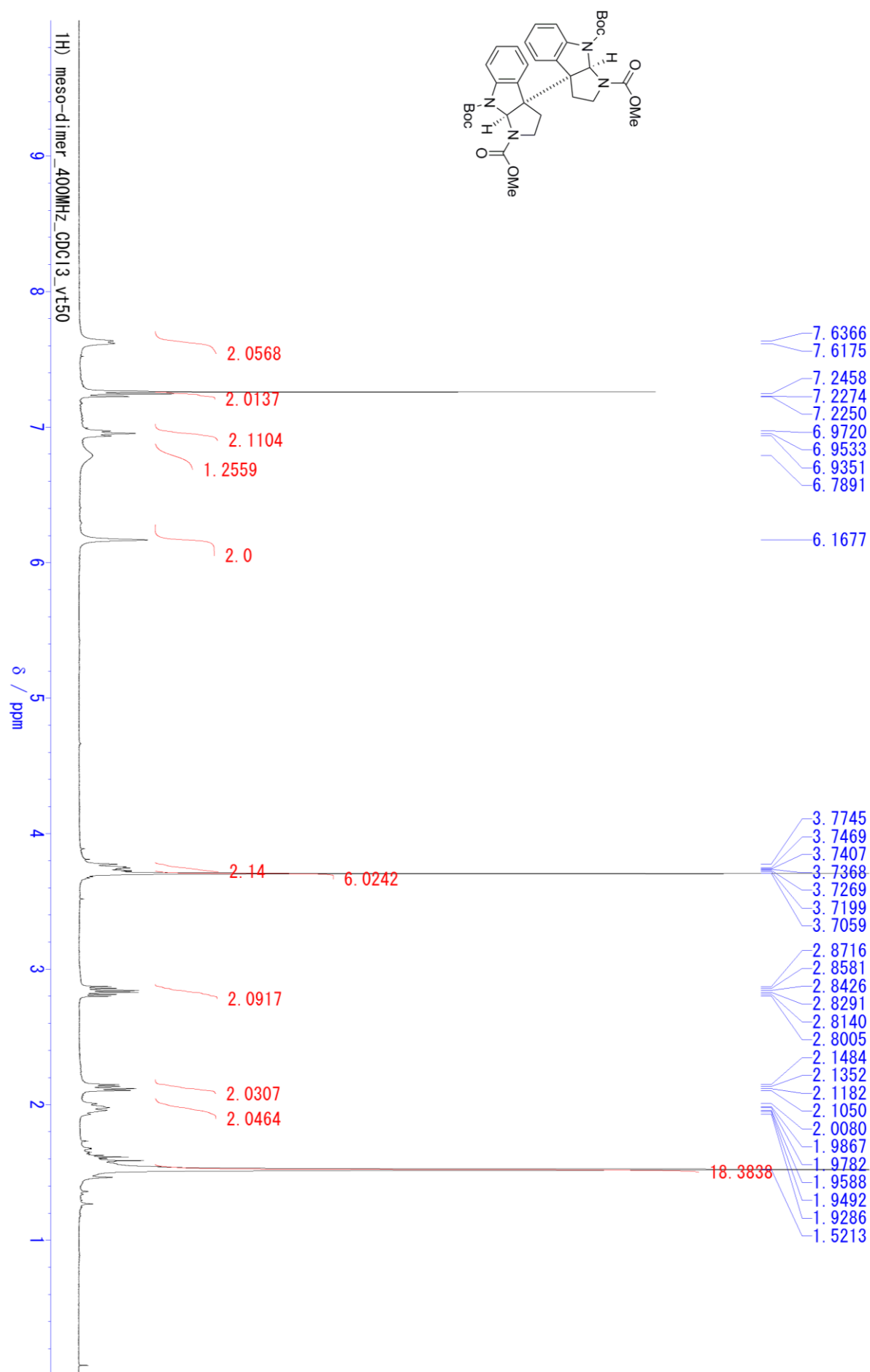


Figure S17. A ^1H -NMR spectrum of 27 in CDCl_3

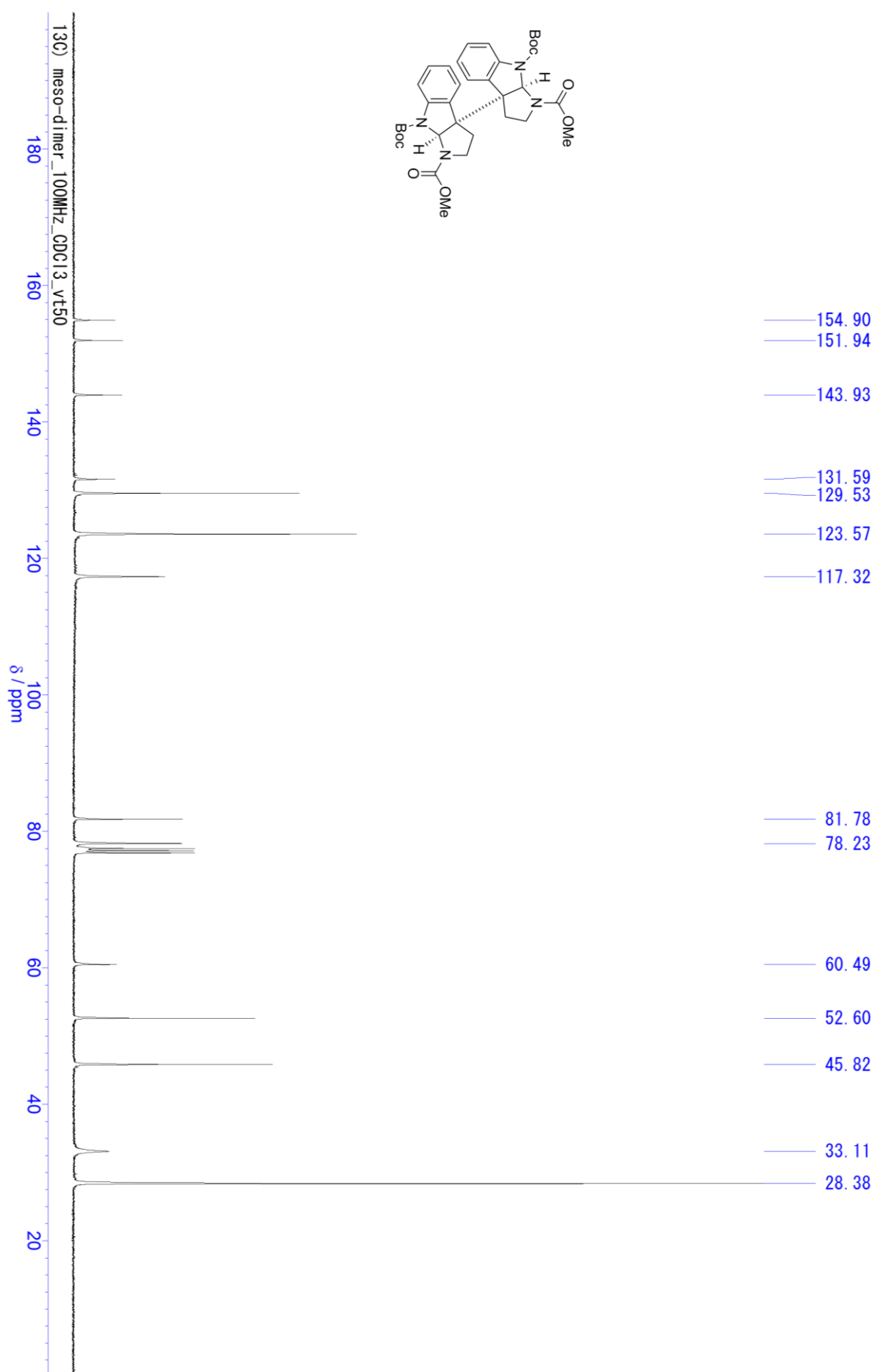


Figure S18. A ^{13}C -NMR spectrum of **27** in CDCl_3

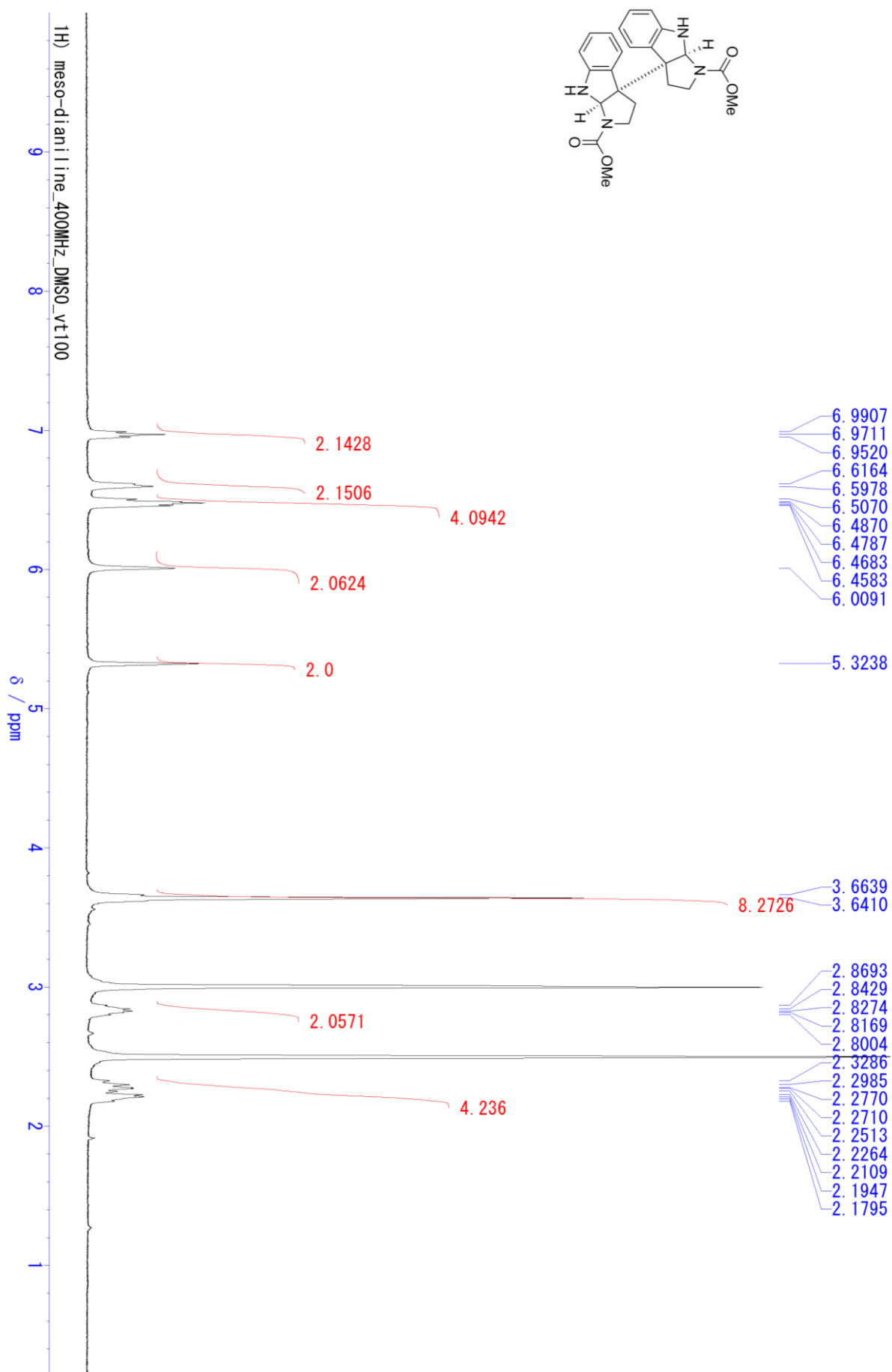


Figure S19. A ¹H-NMR spectrum of **34** in DMSO

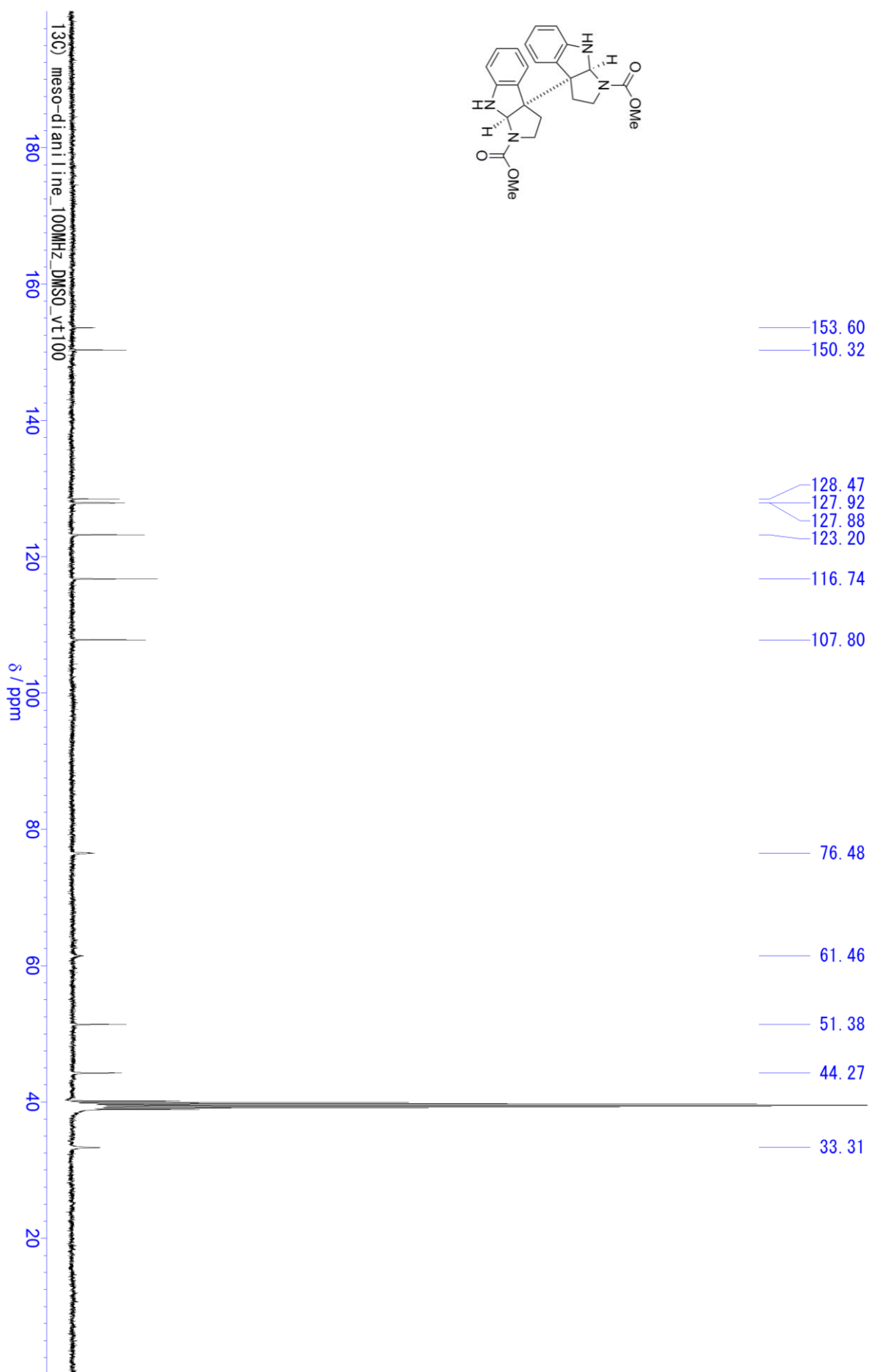


Figure S20. A ¹³C-NMR spectrum of **34** in DMSO

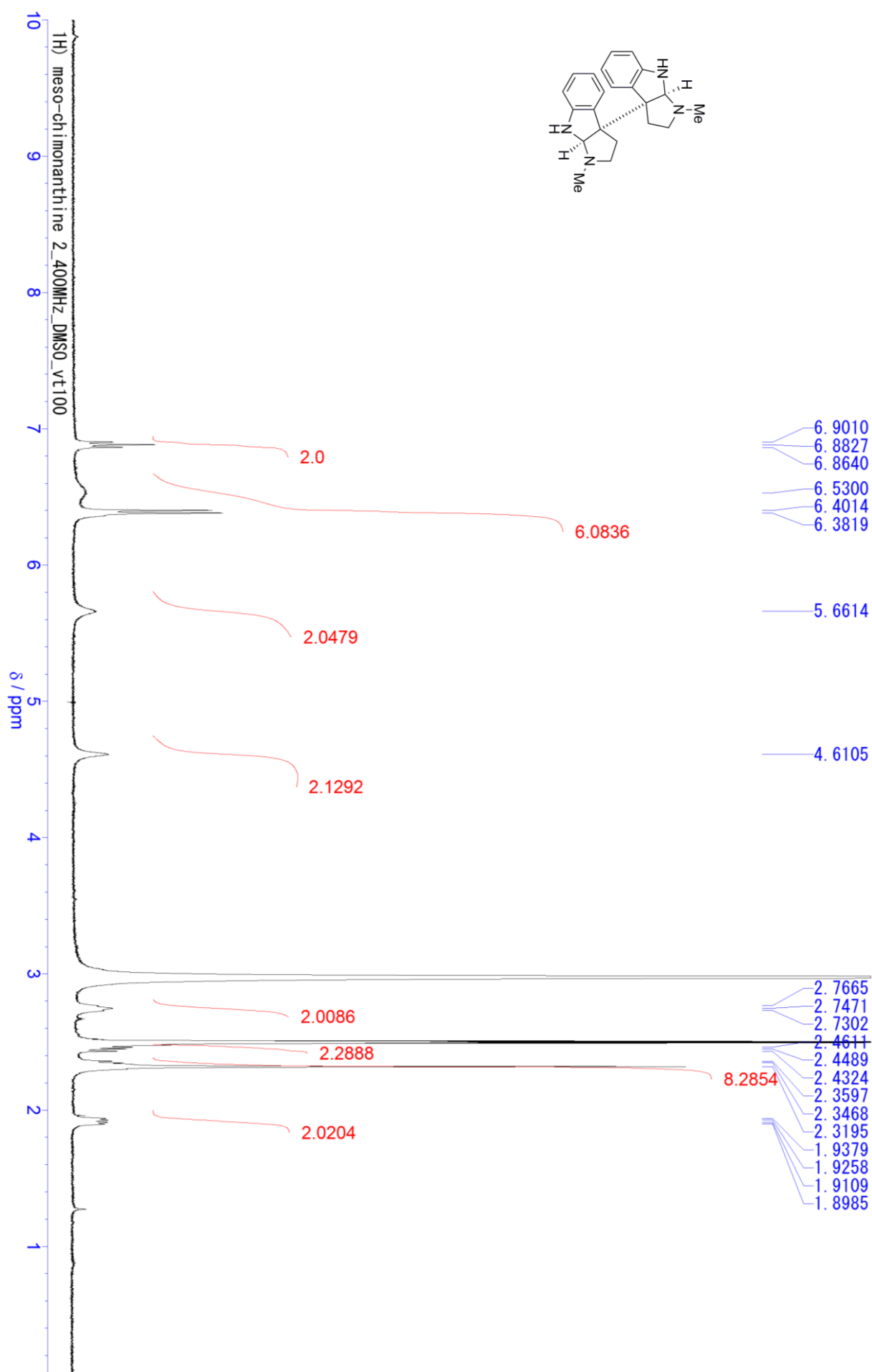


Figure S21. A ¹H-NMR spectrum of *meso*-chimonanthine in DMSO

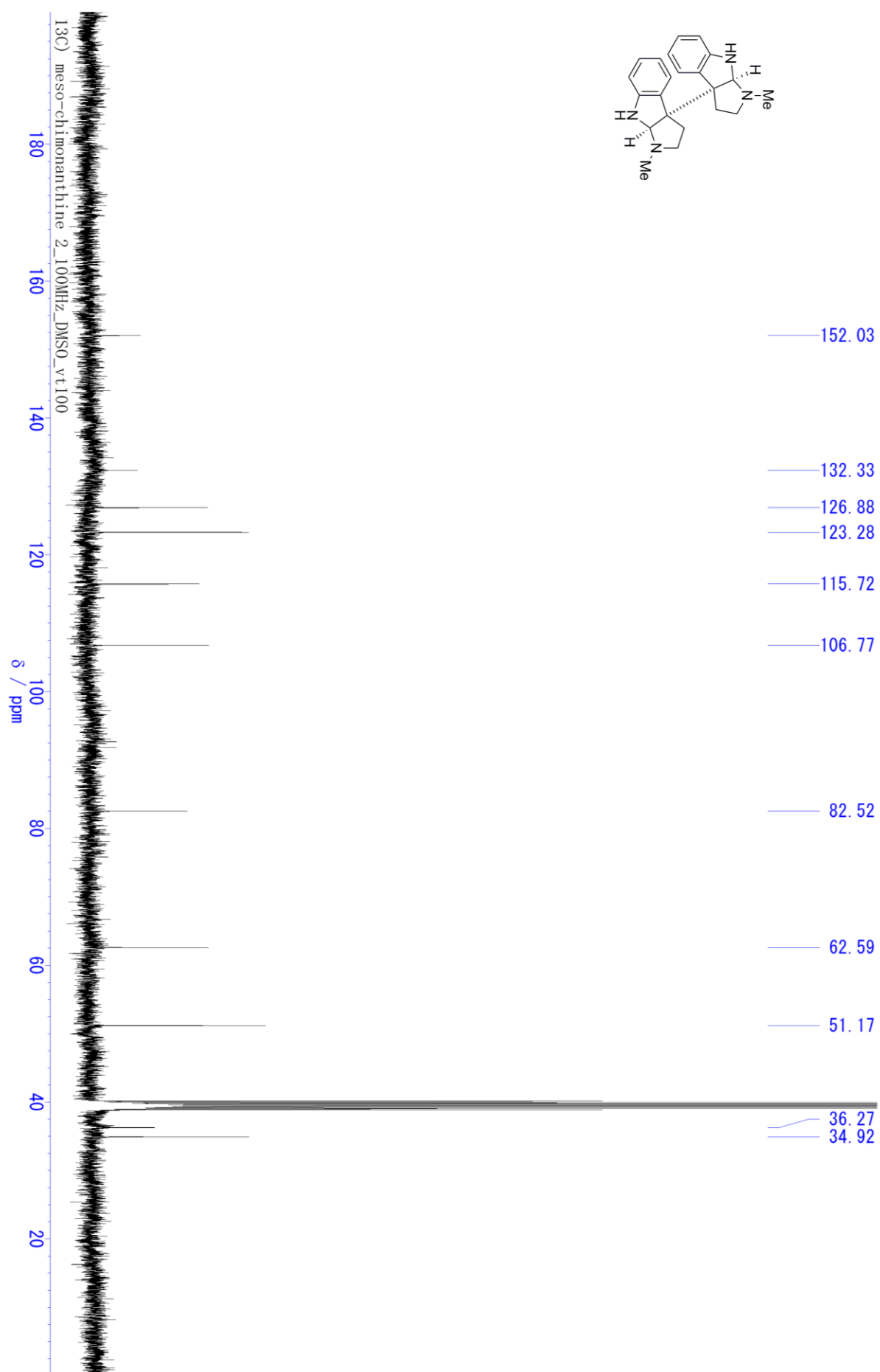


Figure S22. A ¹³C-NMR spectrum of *meso*-chimonanthine in DMSO

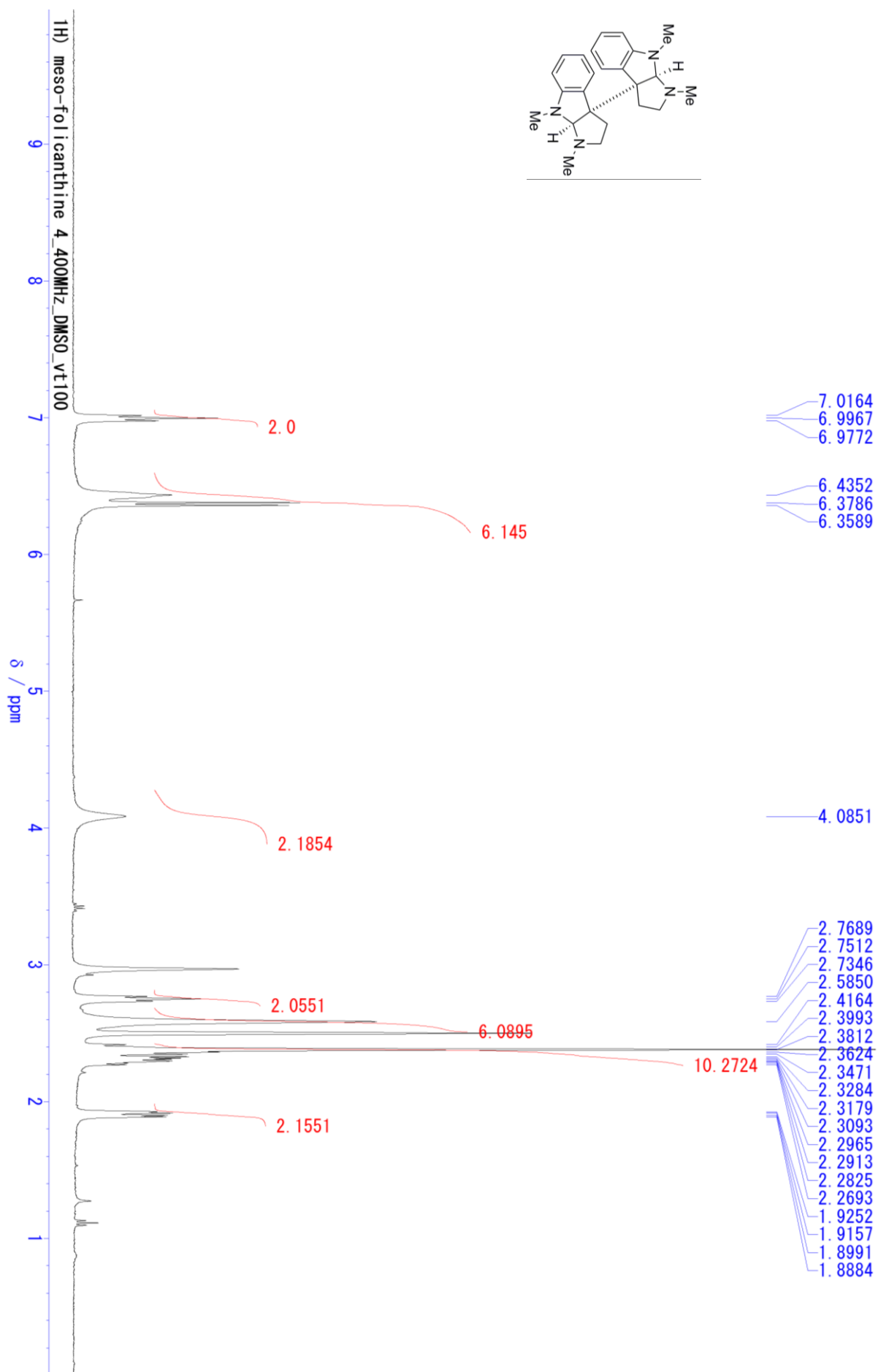


Figure S23. A ¹H-NMR spectrum of *meso*-folicanthine in DMSO

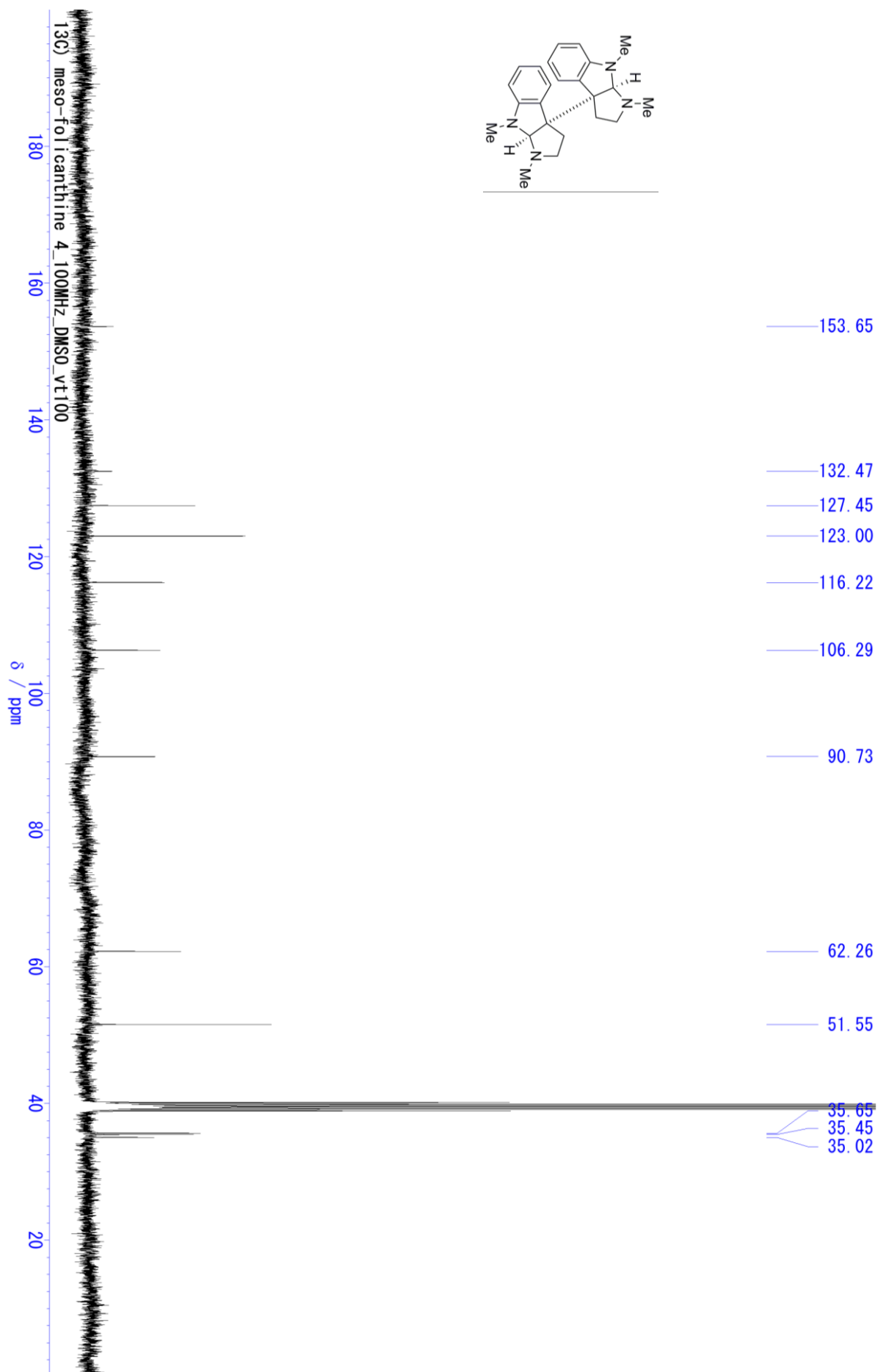


Figure S24. A ¹³C-NMR spectrum of *meso*-folicanthine in DMSO

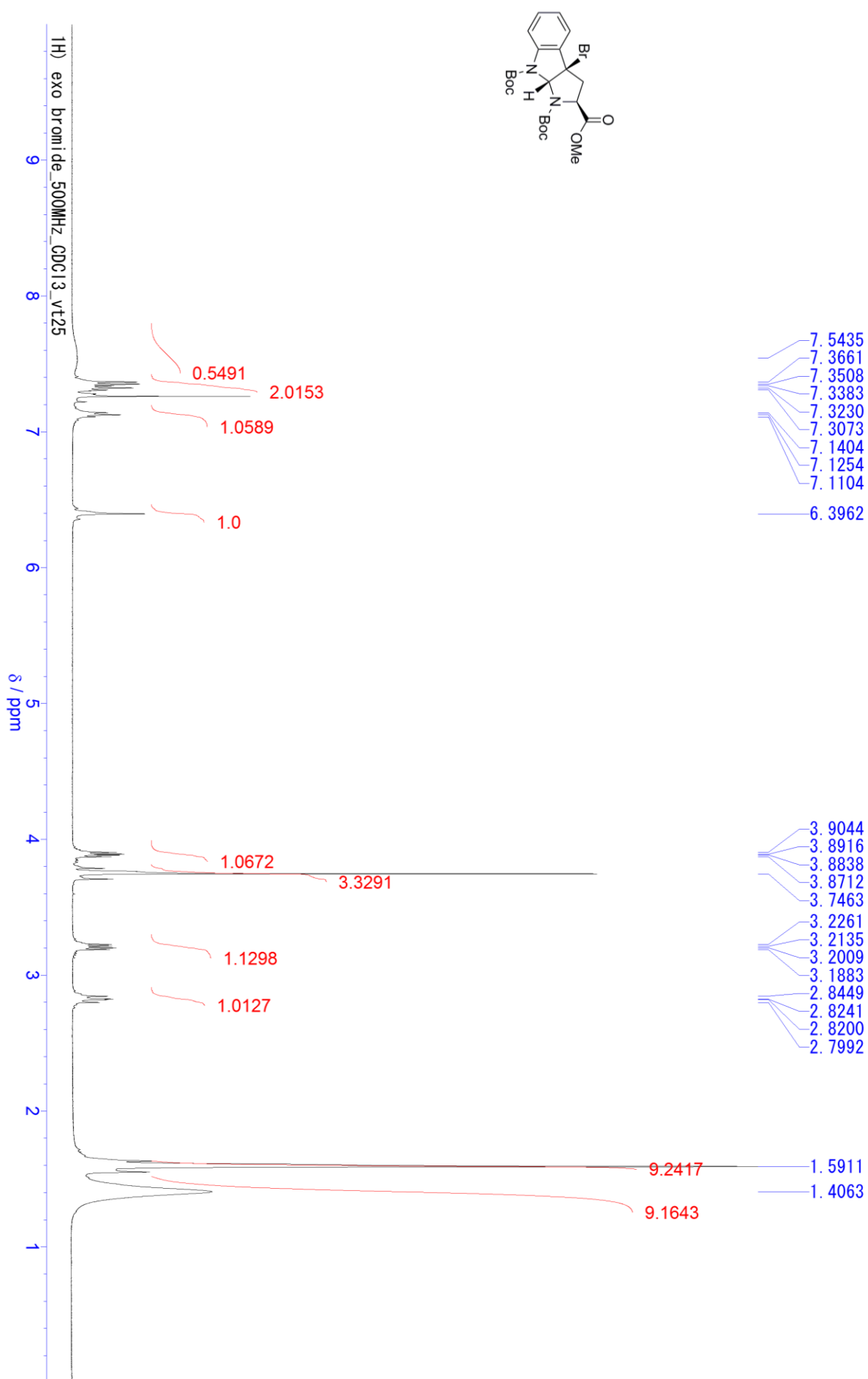


Figure S25. A ¹H-NMR spectrum of 17 in CDCl₃

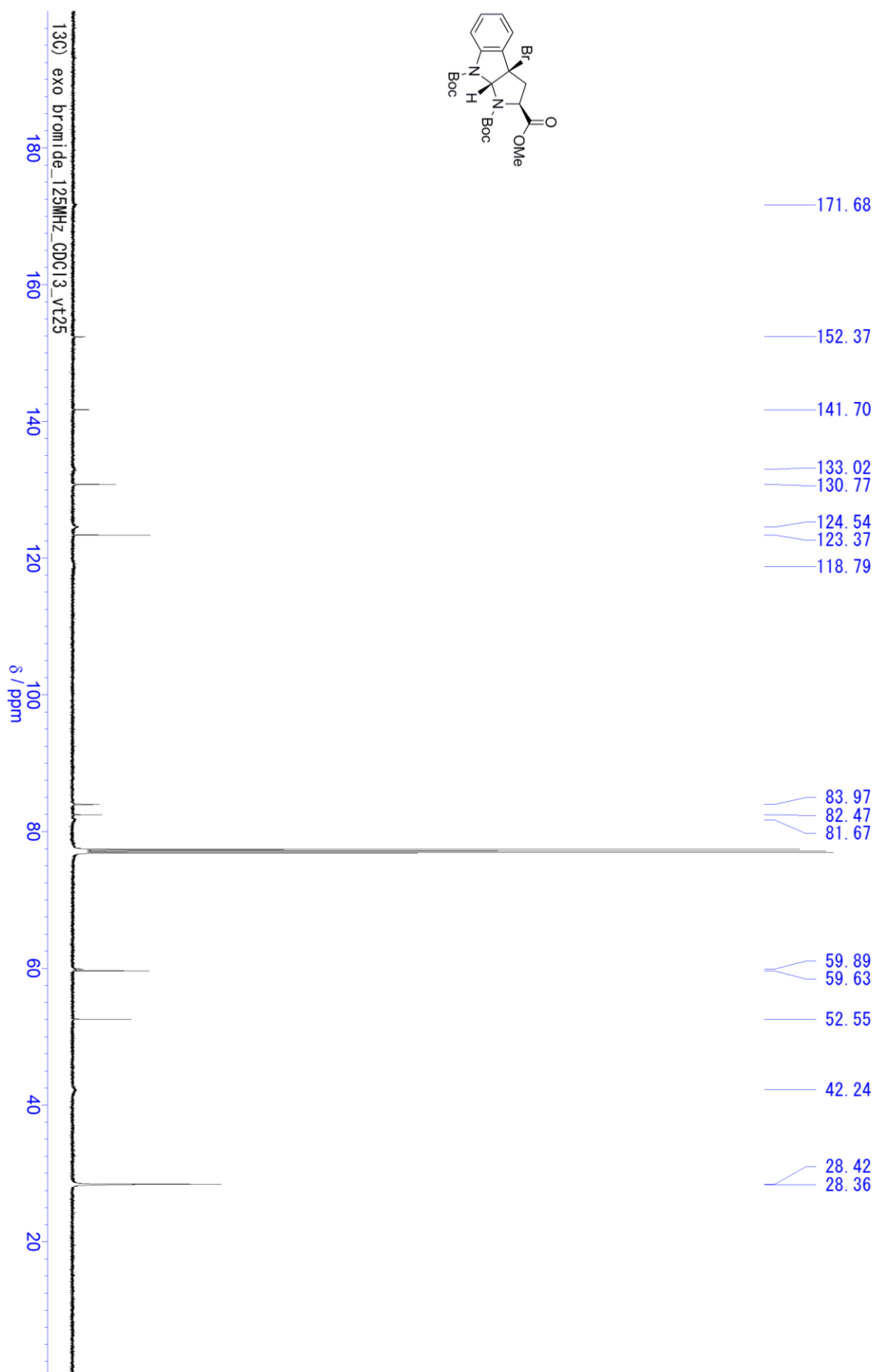


Figure S26. A ¹³C-NMR spectrum of 17 in CDCl₃

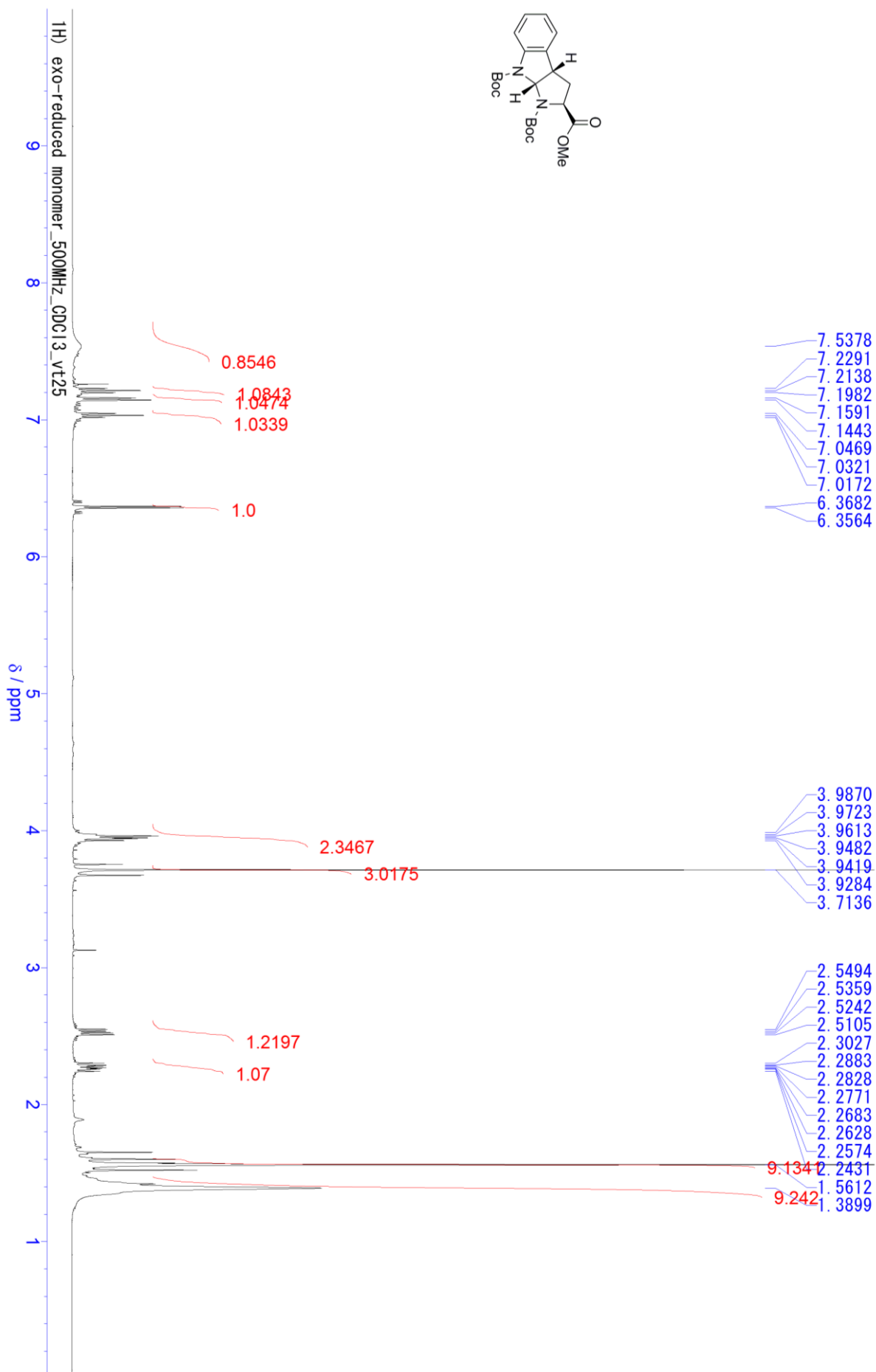


Figure S27. A ¹H-NMR spectrum of **20** in CDCl₃

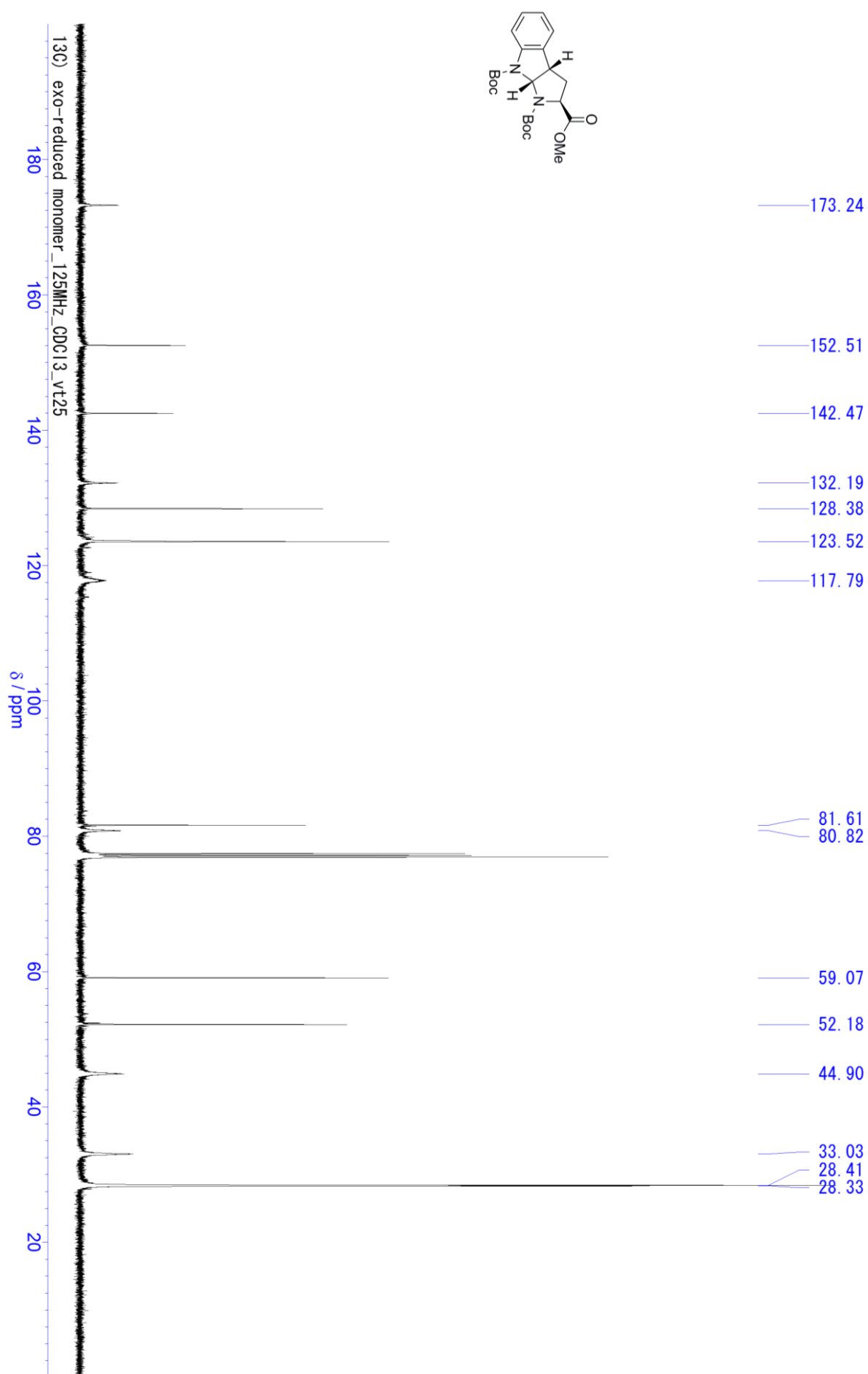


Figure S28. A ¹³C-NMR spectrum of **20** in CDCl₃

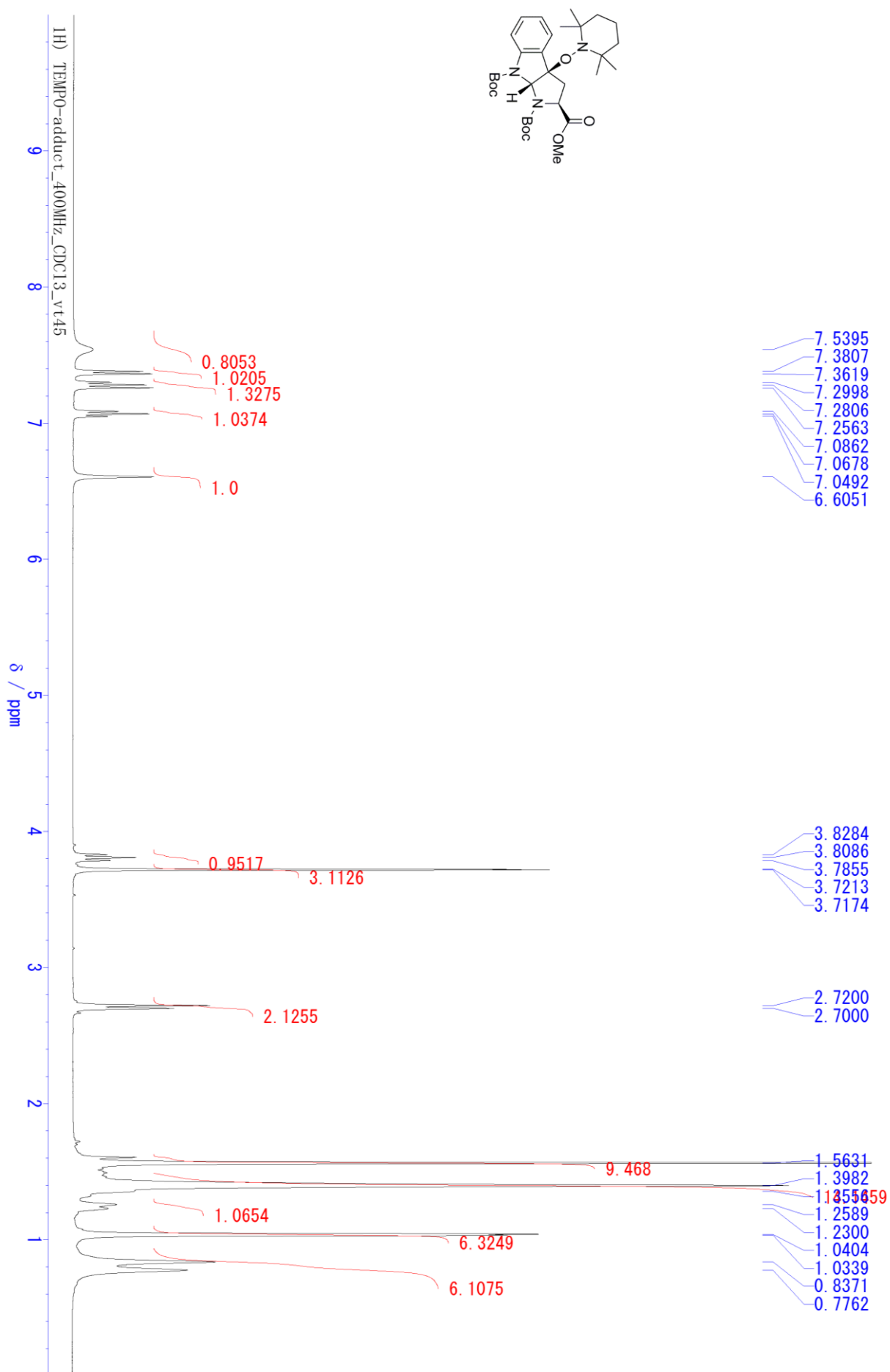


Figure S29. A ^1H -NMR spectrum of **29** in CDCl_3

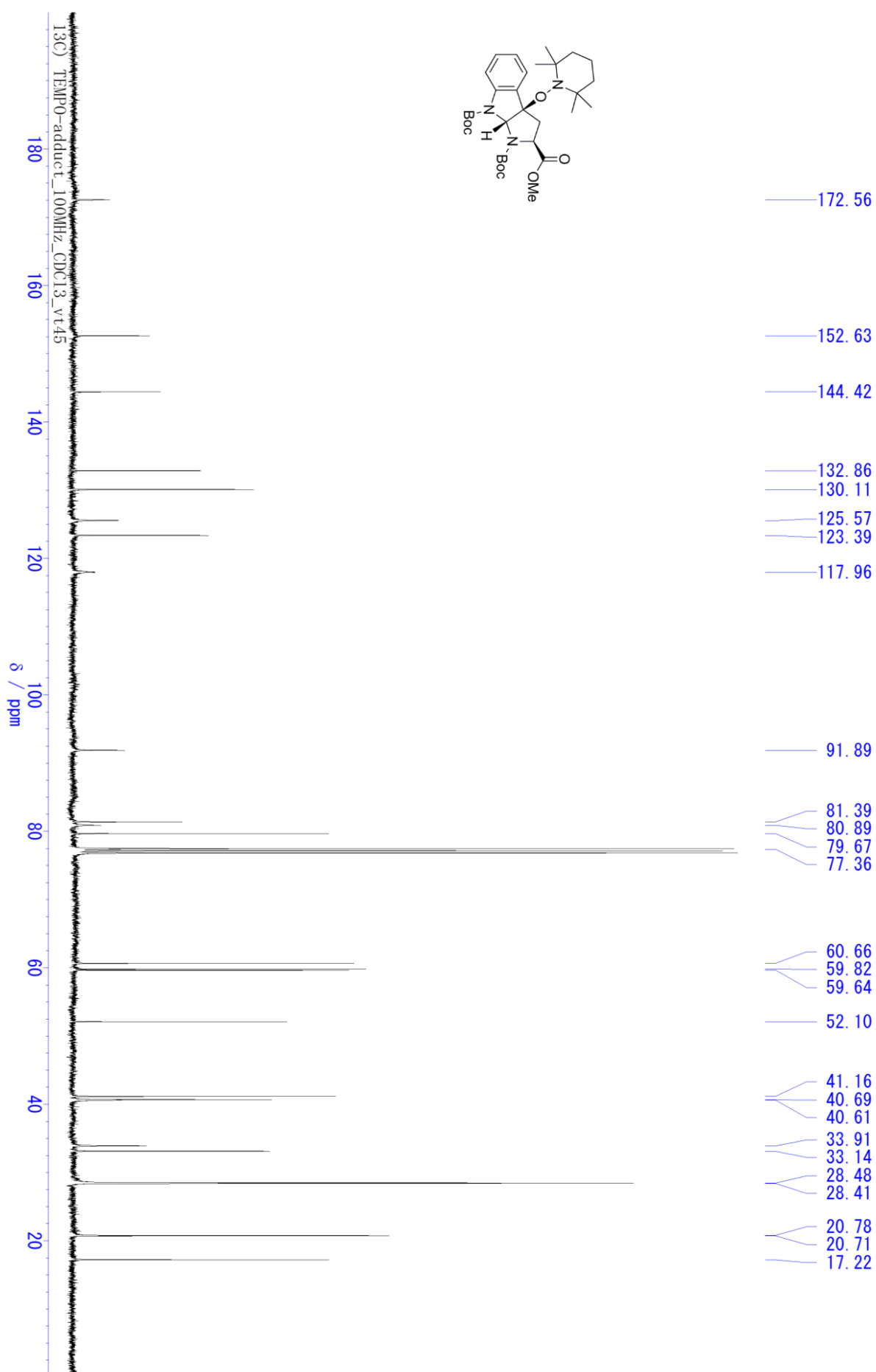


Figure S30. A ¹³C-NMR spectrum of **29** in CDCl₃

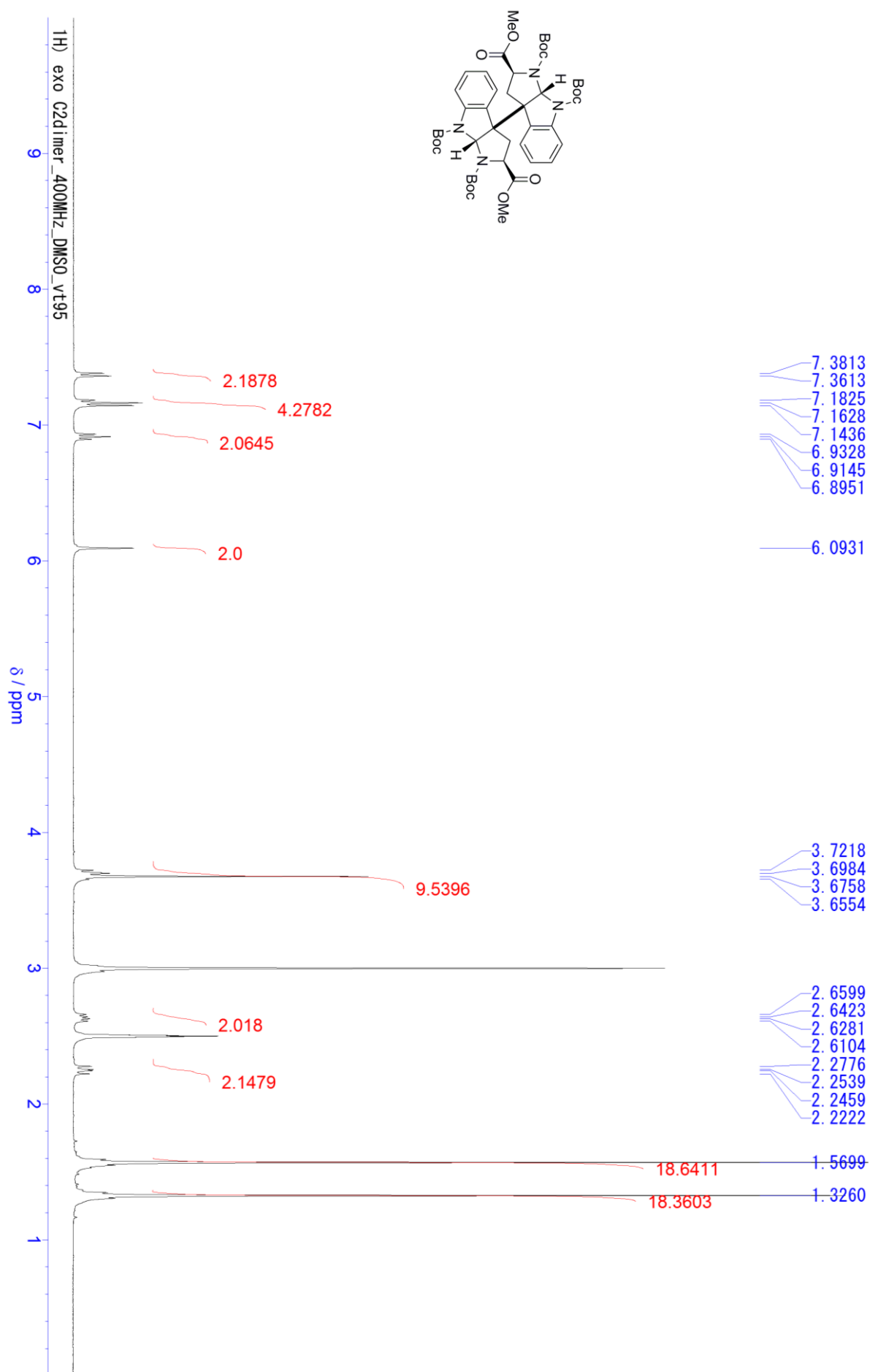


Figure S31. A ^1H -NMR spectrum of **19** in DMSO

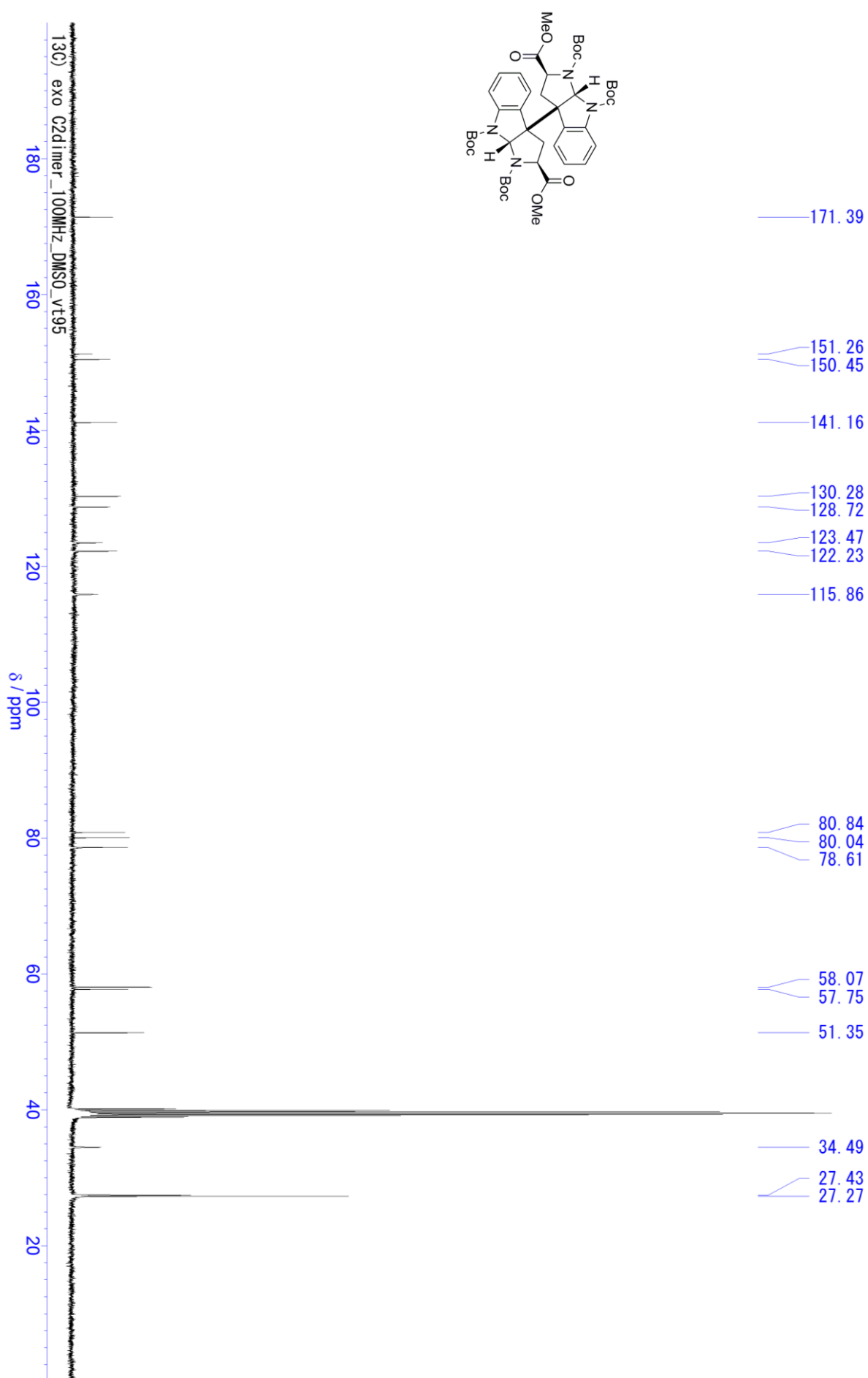


Figure S32. A ¹³C-NMR spectrum of **19** in DMSO

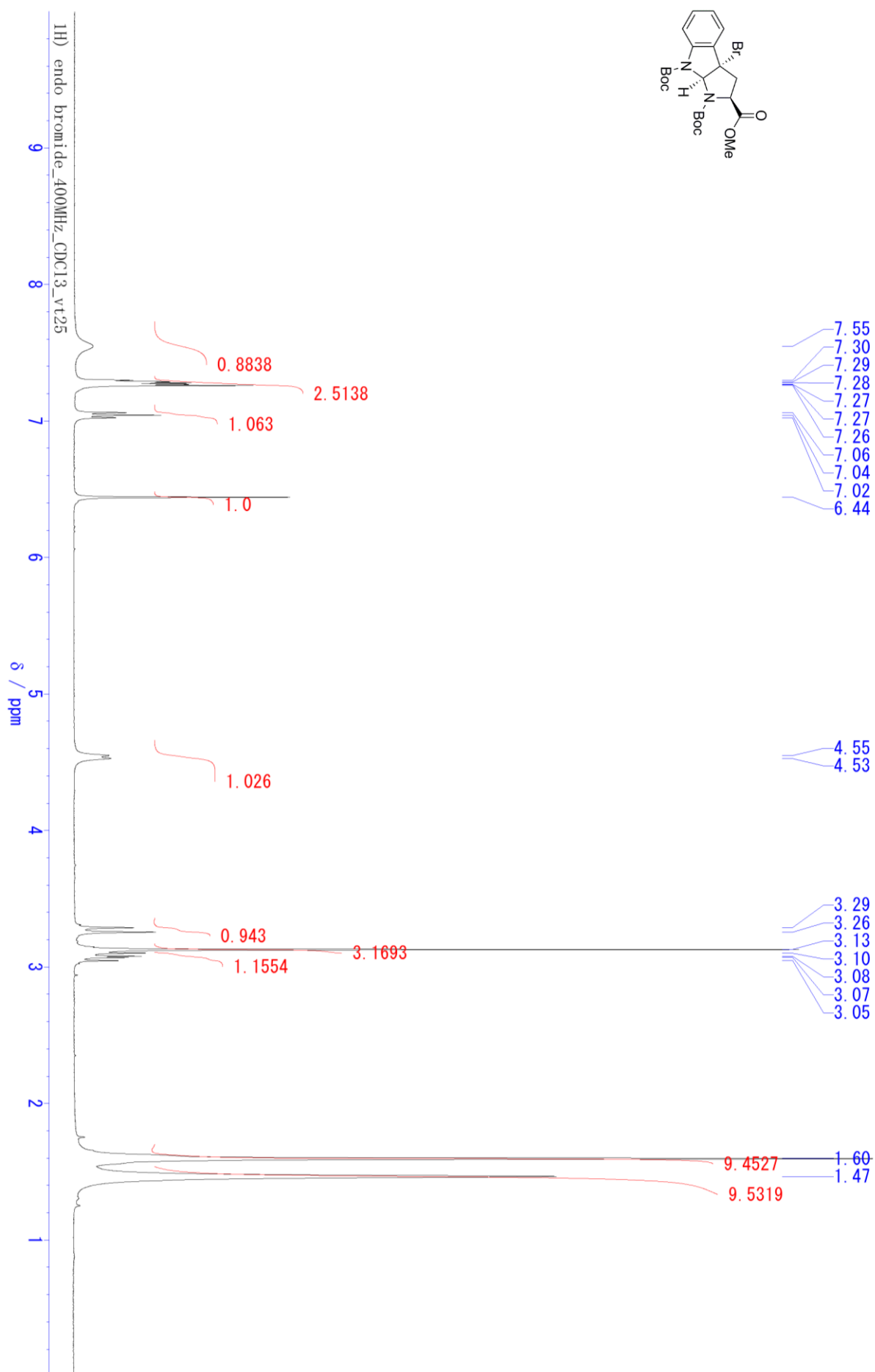


Figure S33. A ^1H -NMR spectrum of **18** in CDCl_3

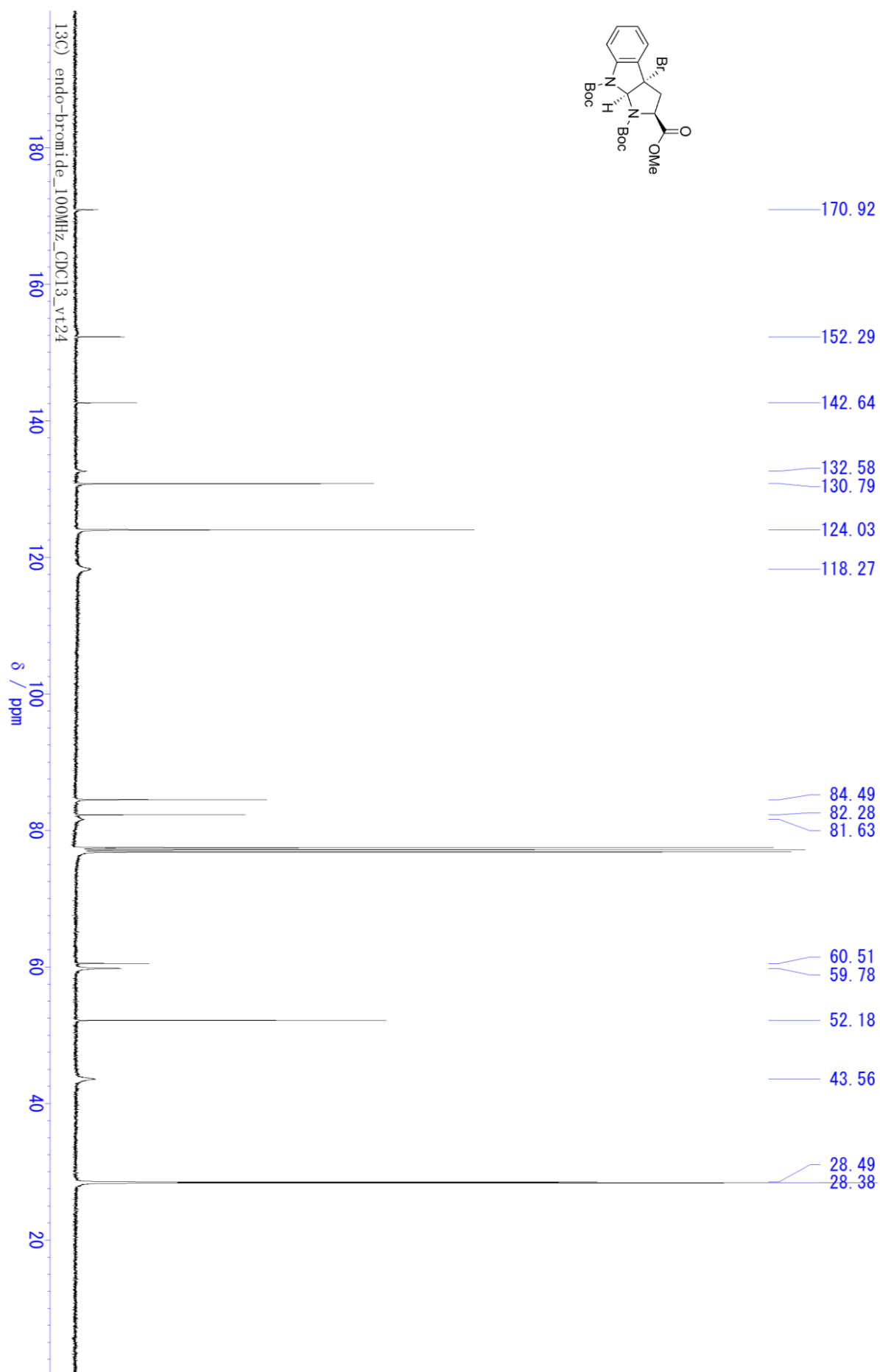


Figure S34. A ^{13}C -NMR spectrum of **18** in CDCl_3

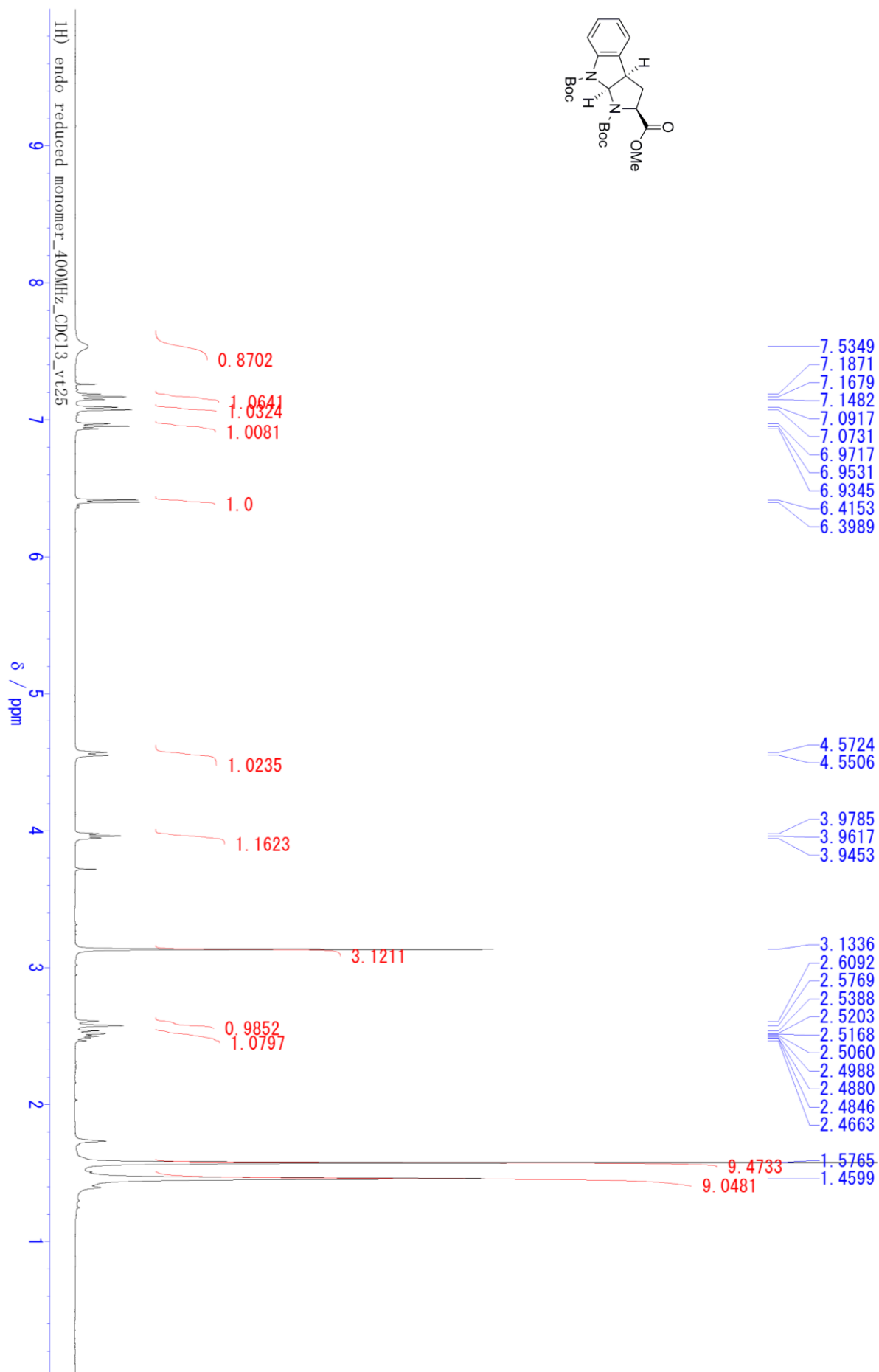


Figure S35. A ¹H-NMR spectrum of **22** in CDCl₃

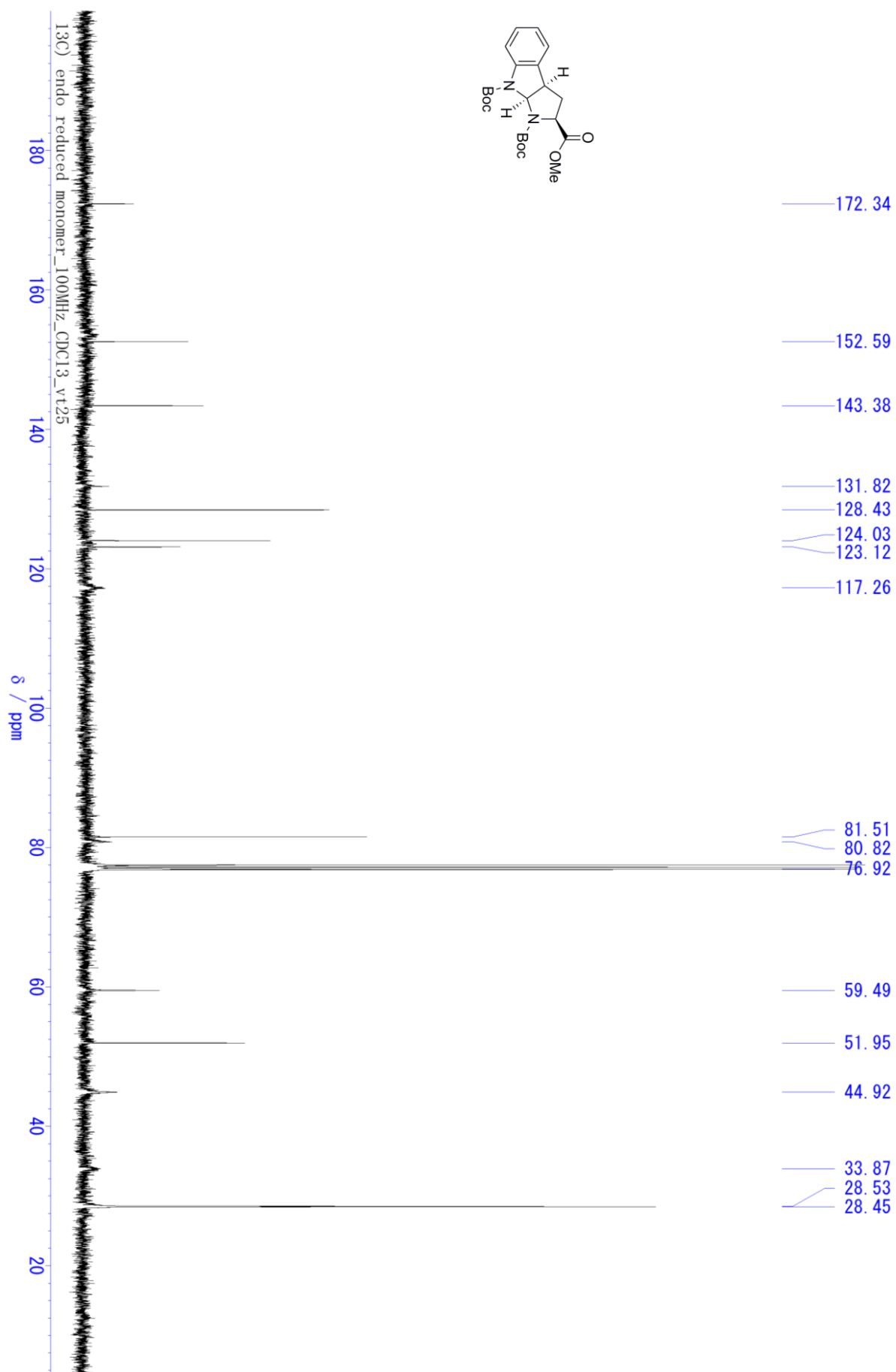


Figure S36. A ¹³C-NMR spectrum of **22** in CDCl₃

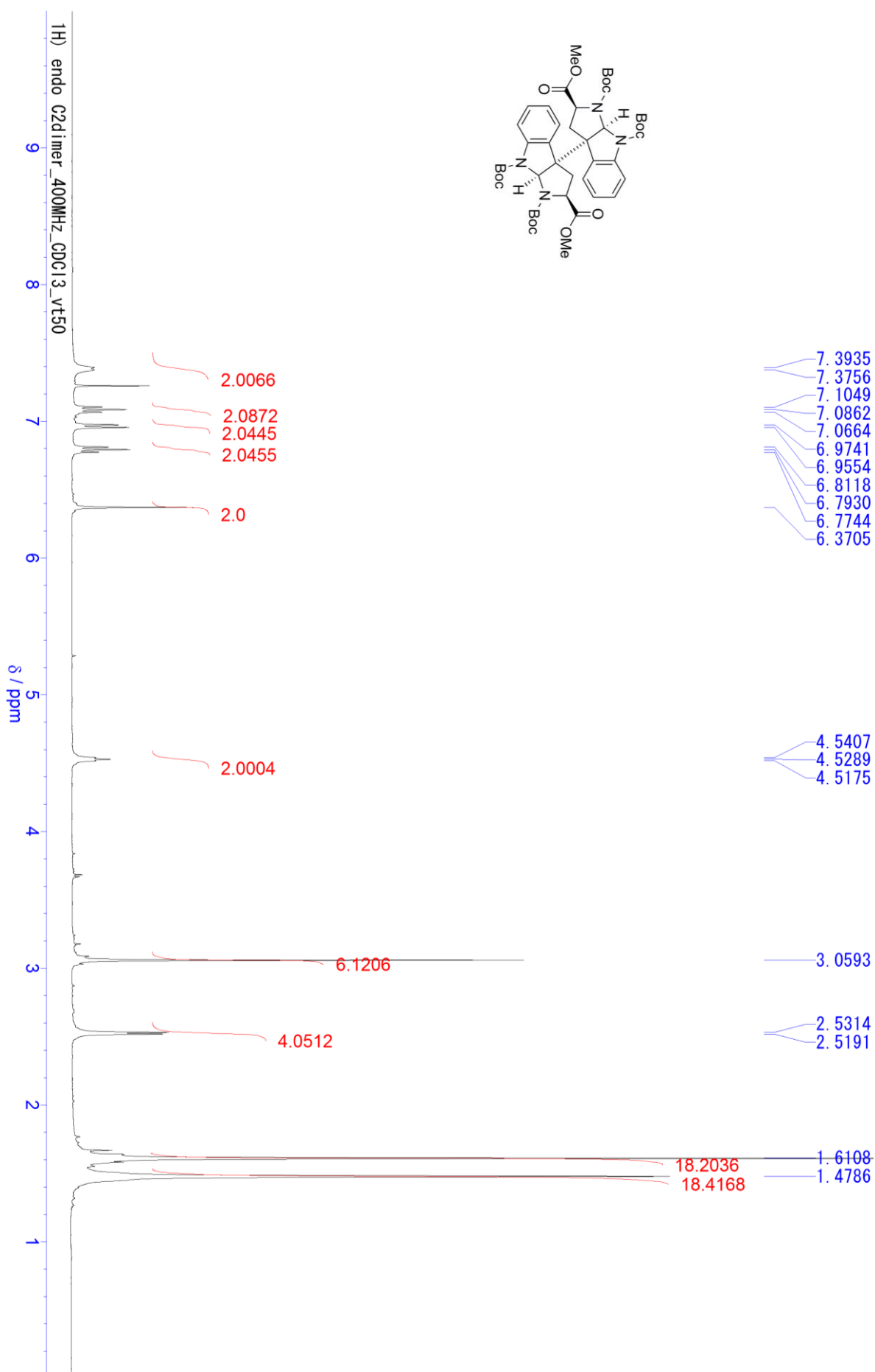


Figure S37. A ^1H -NMR spectrum of **21** in CDCl_3

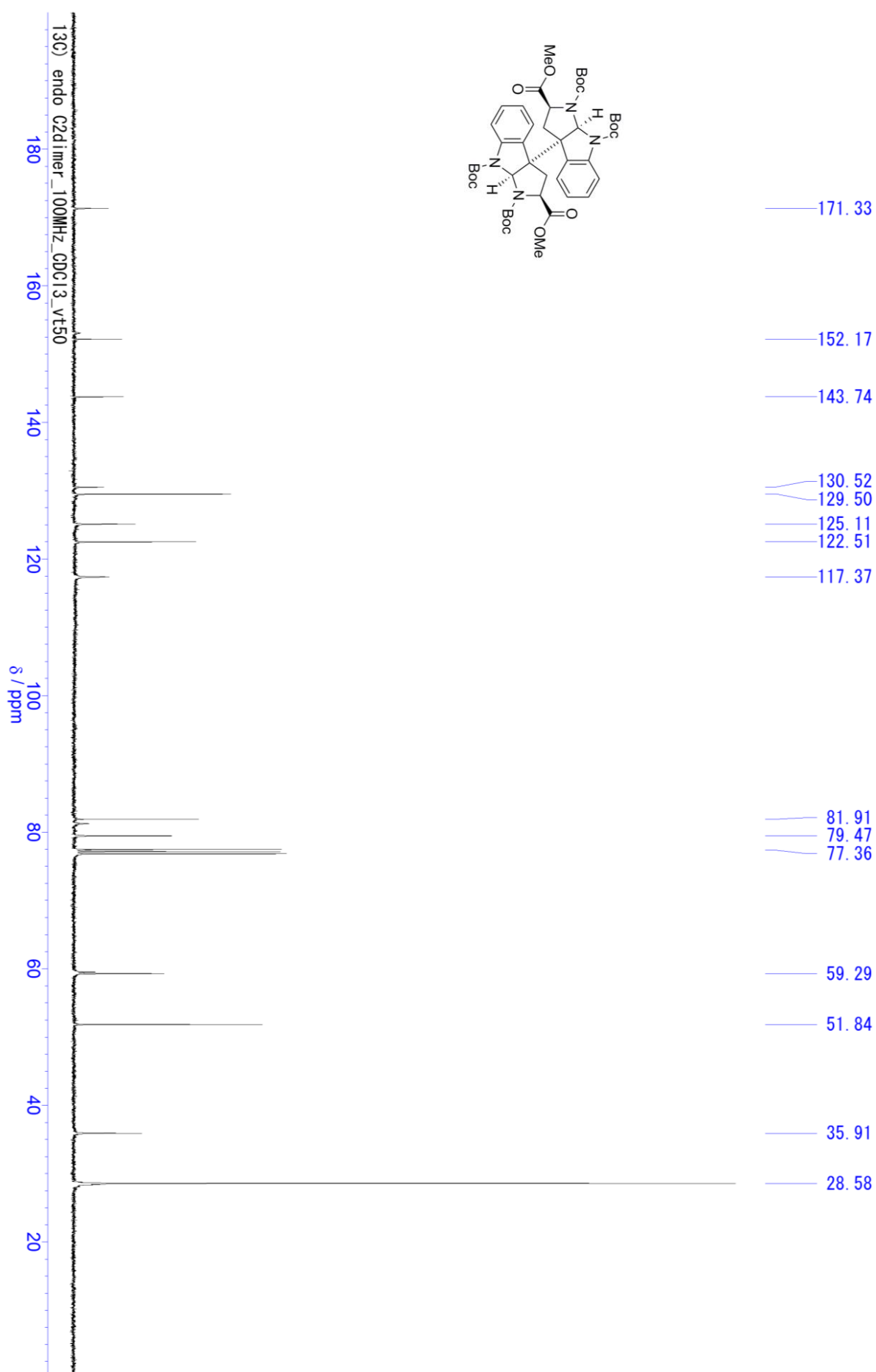


Figure S38. A ¹³C-NMR spectrum of **21** in CDCl₃

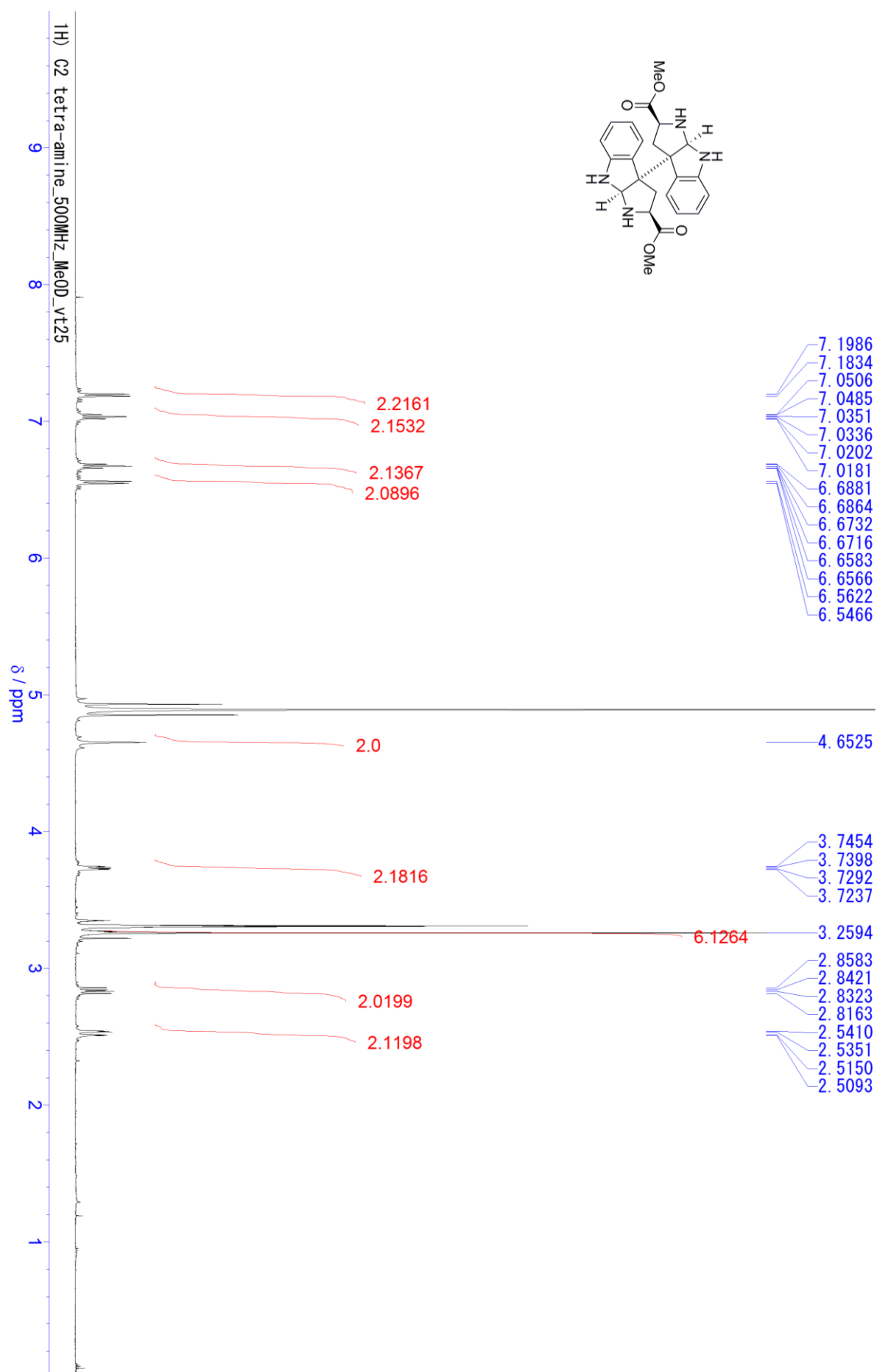


Figure S39. A ¹H-NMR spectrum of **36** in CD₃OD

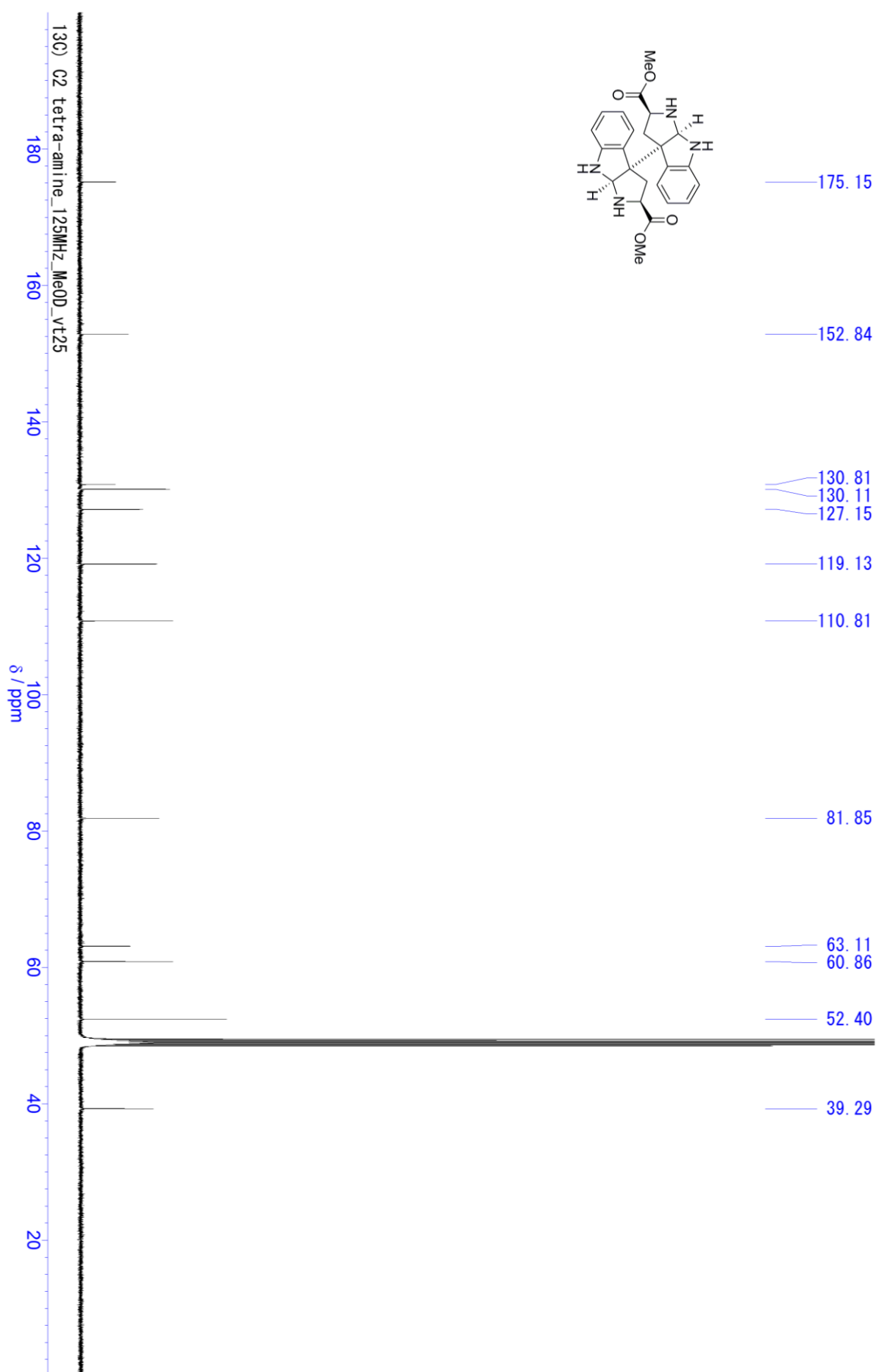


Figure S40. A ¹³C-NMR spectrum of **36** in CD₃OD

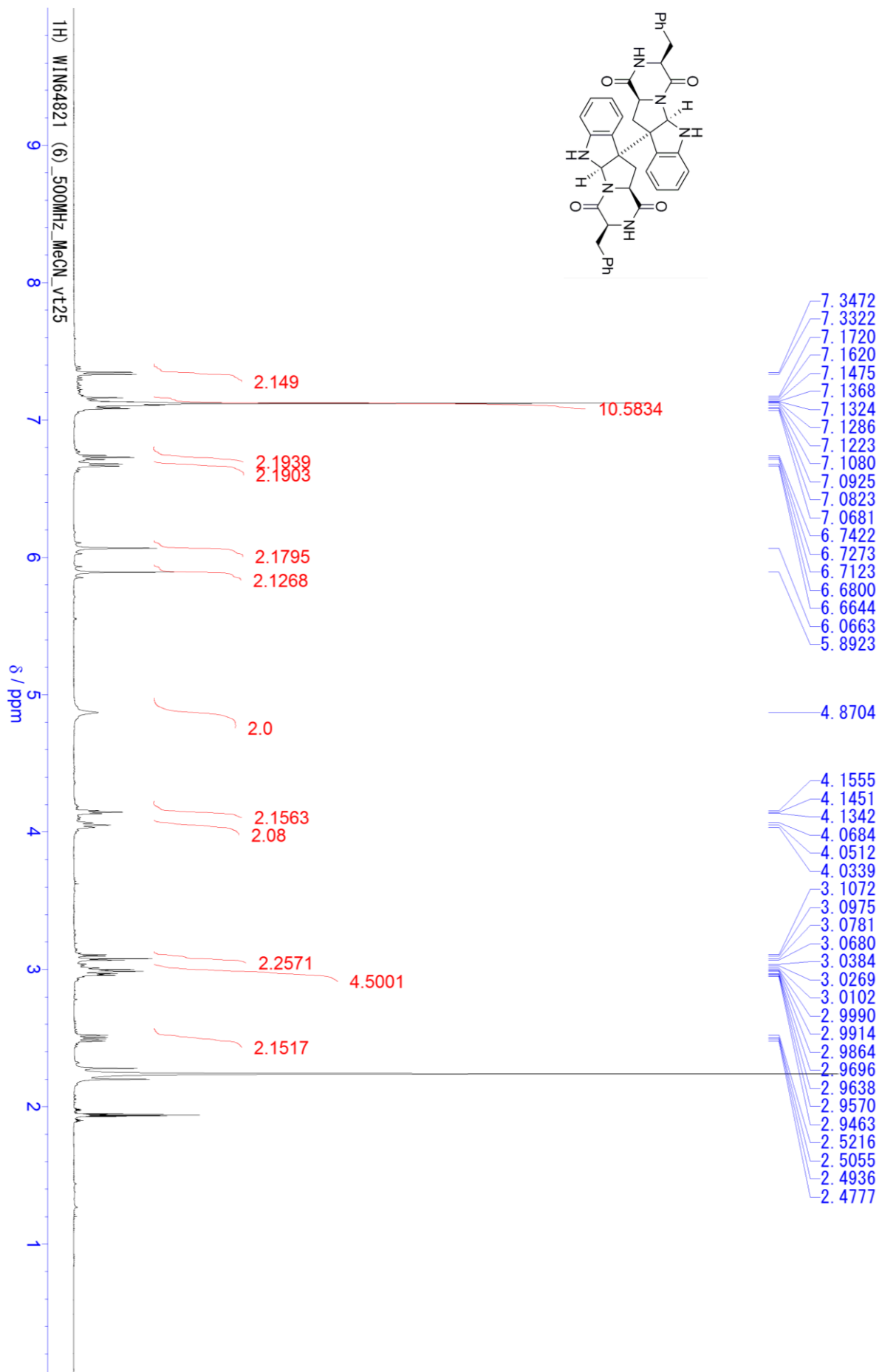


Figure S41. A ^1H -NMR spectrum of (+)-WIN 64821 in CD_3CN

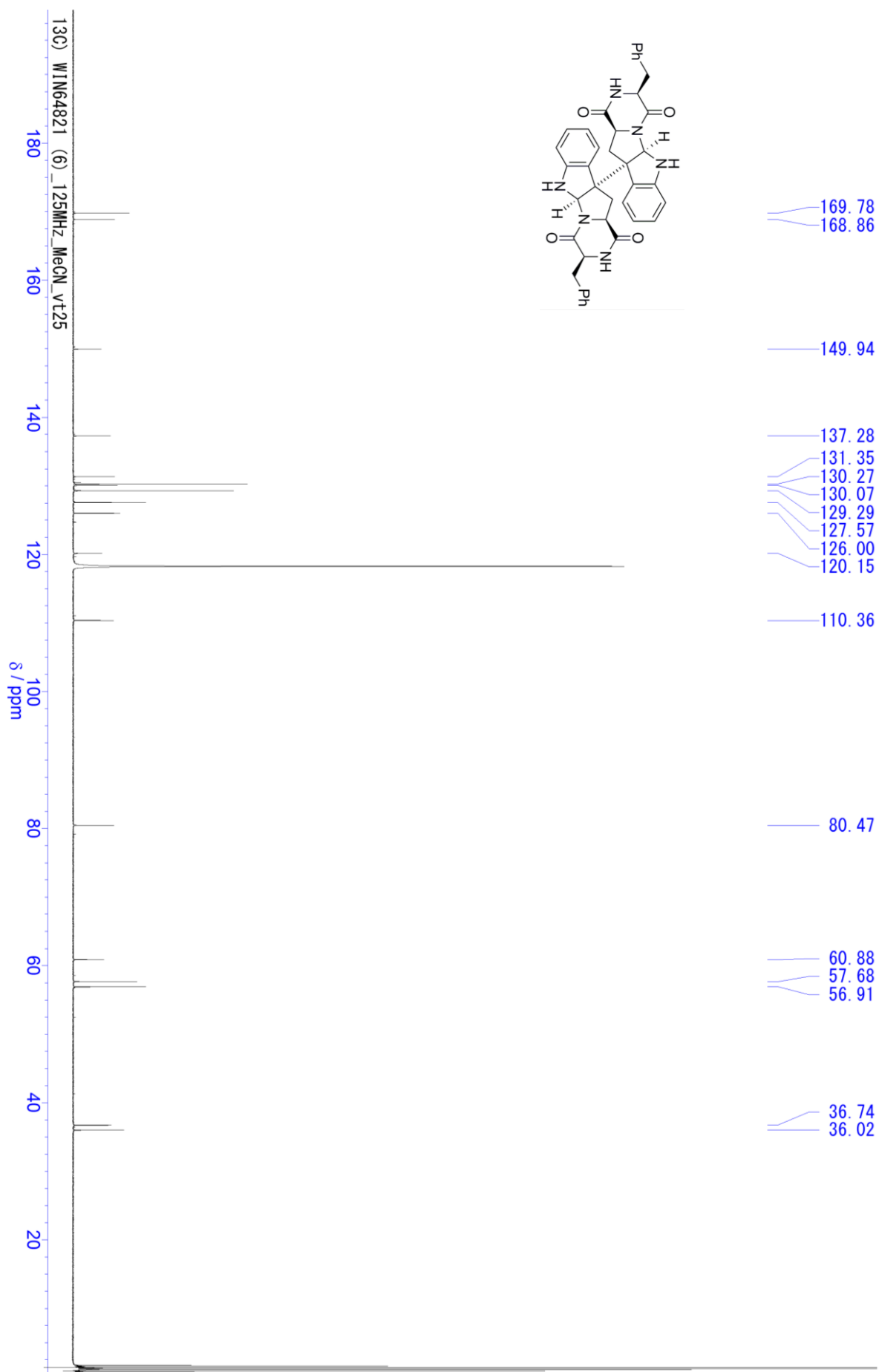


Figure S42. A ^{13}C -NMR spectrum of (+)-WIN 64821 in CD_3CN

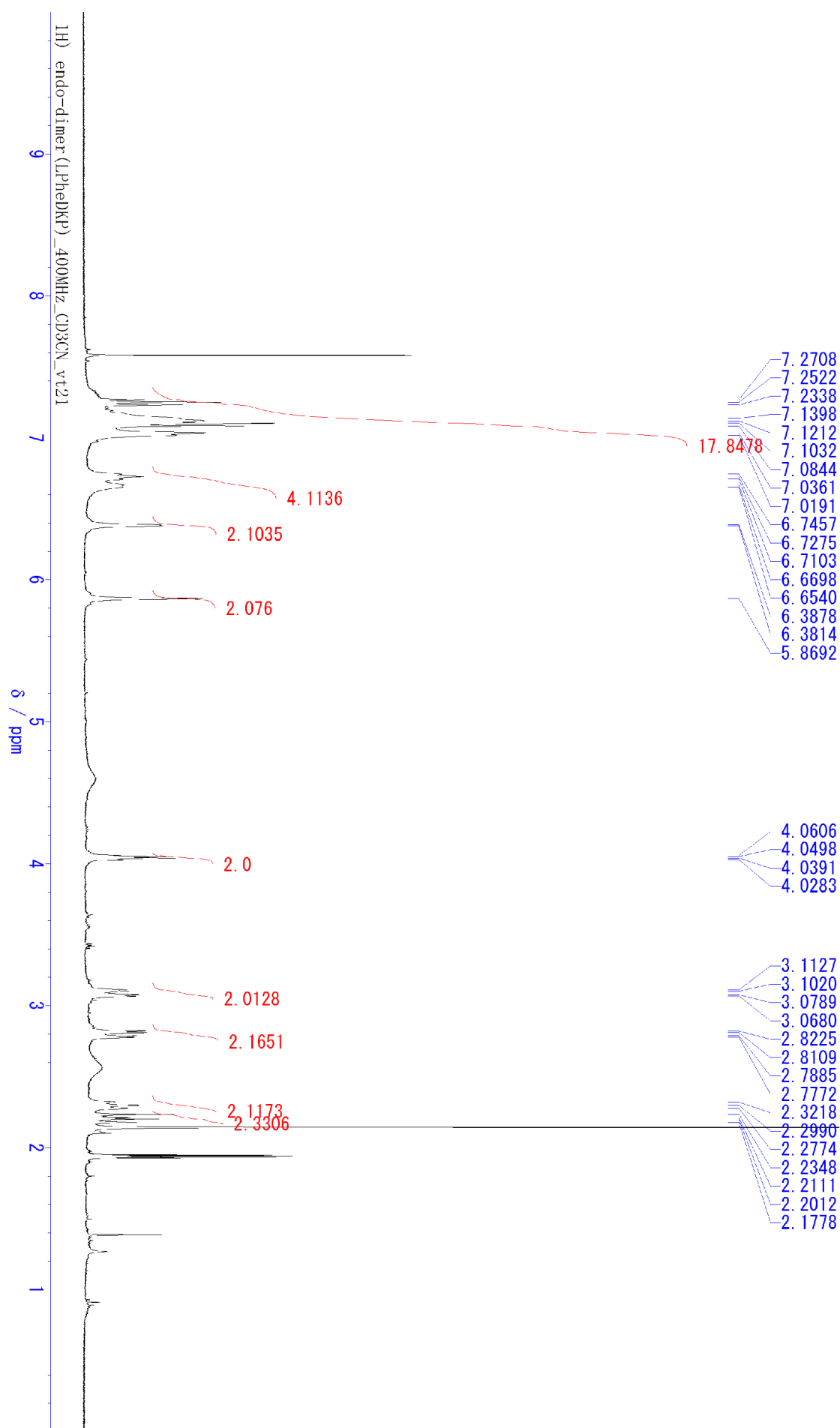


Figure S43. A ¹H-NMR spectrum of 3-2 in CD₃CN

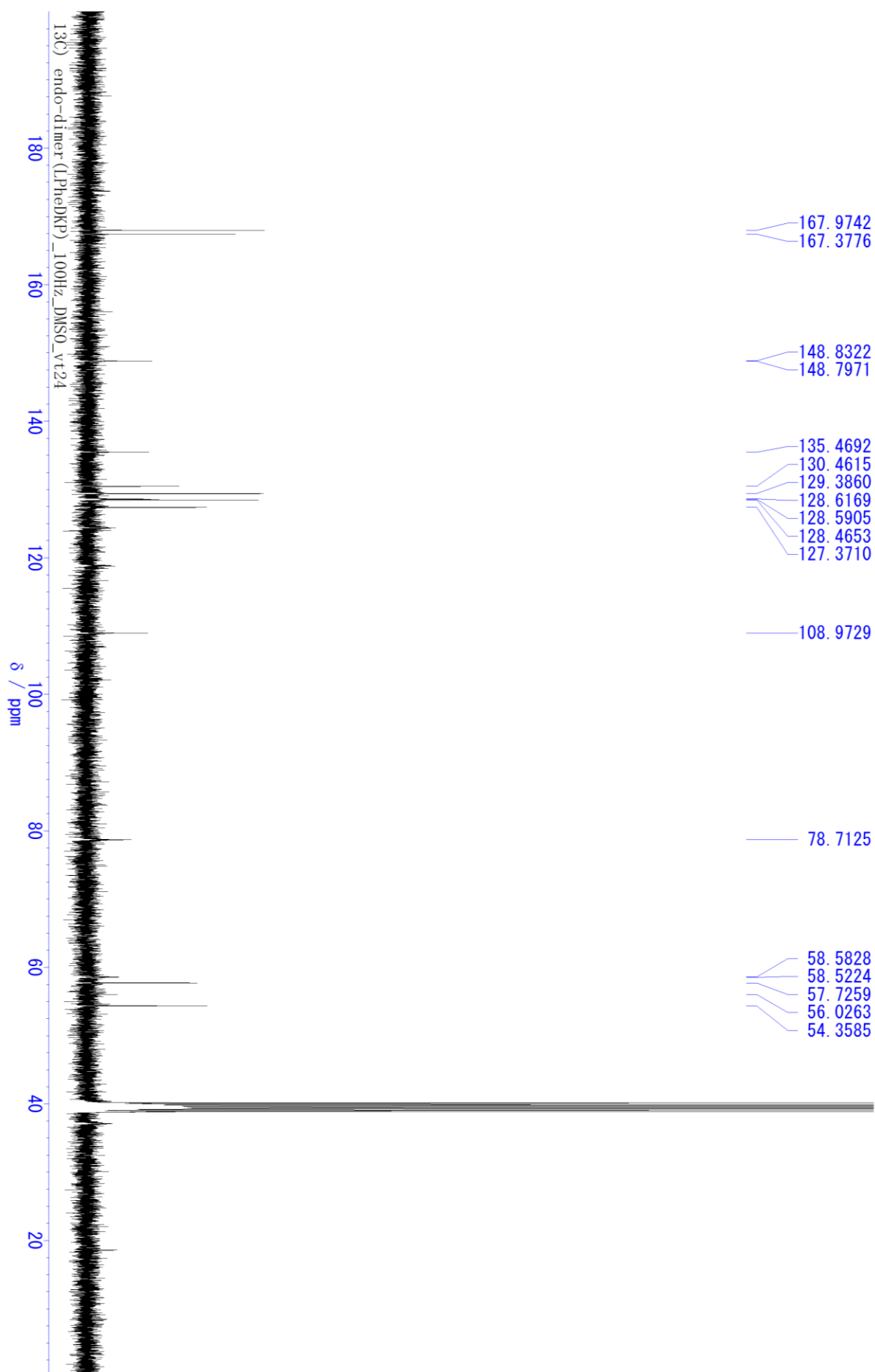


Figure S44. A ¹³C-NMR spectrum of 3-2 in DMSO

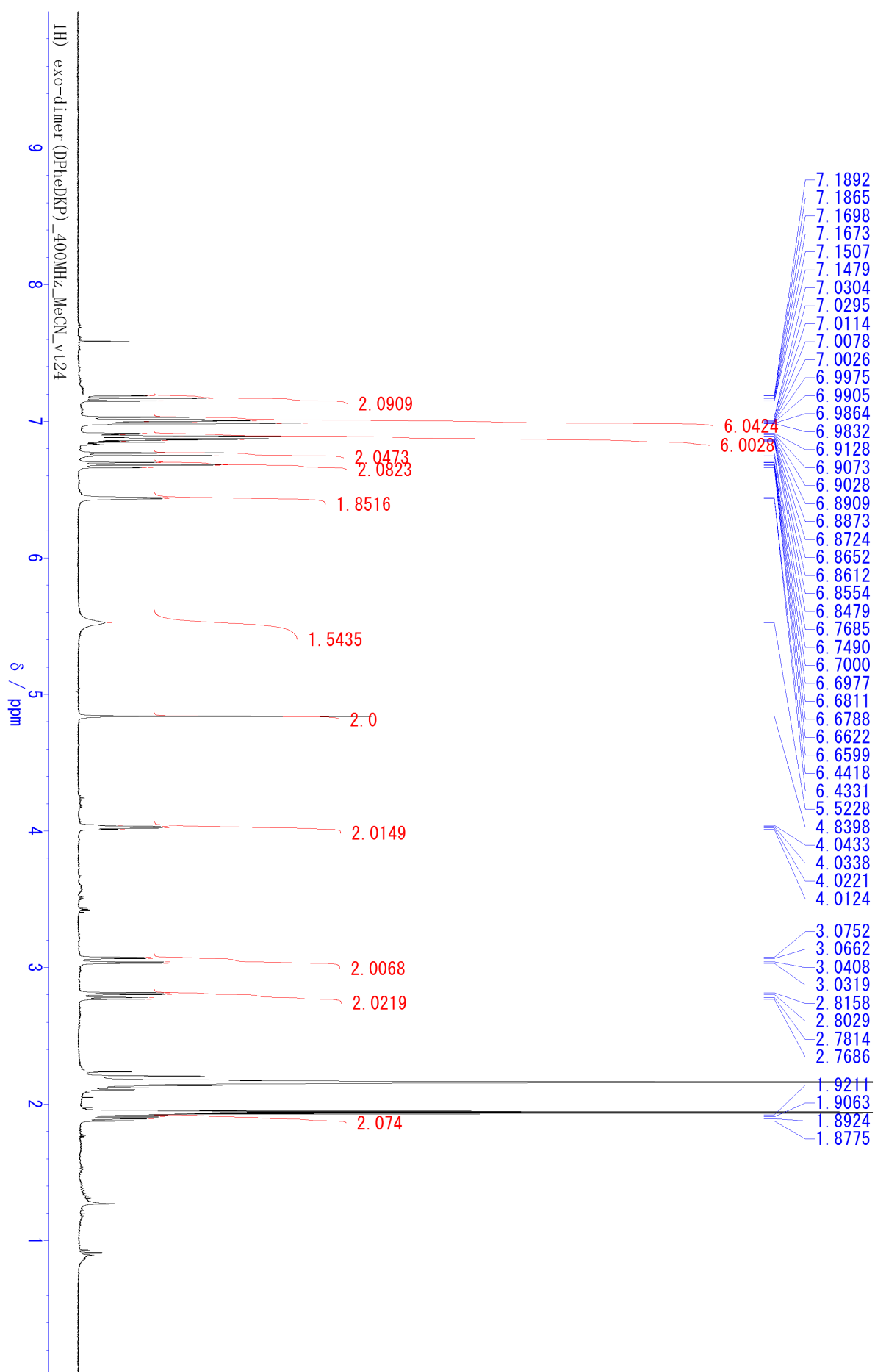
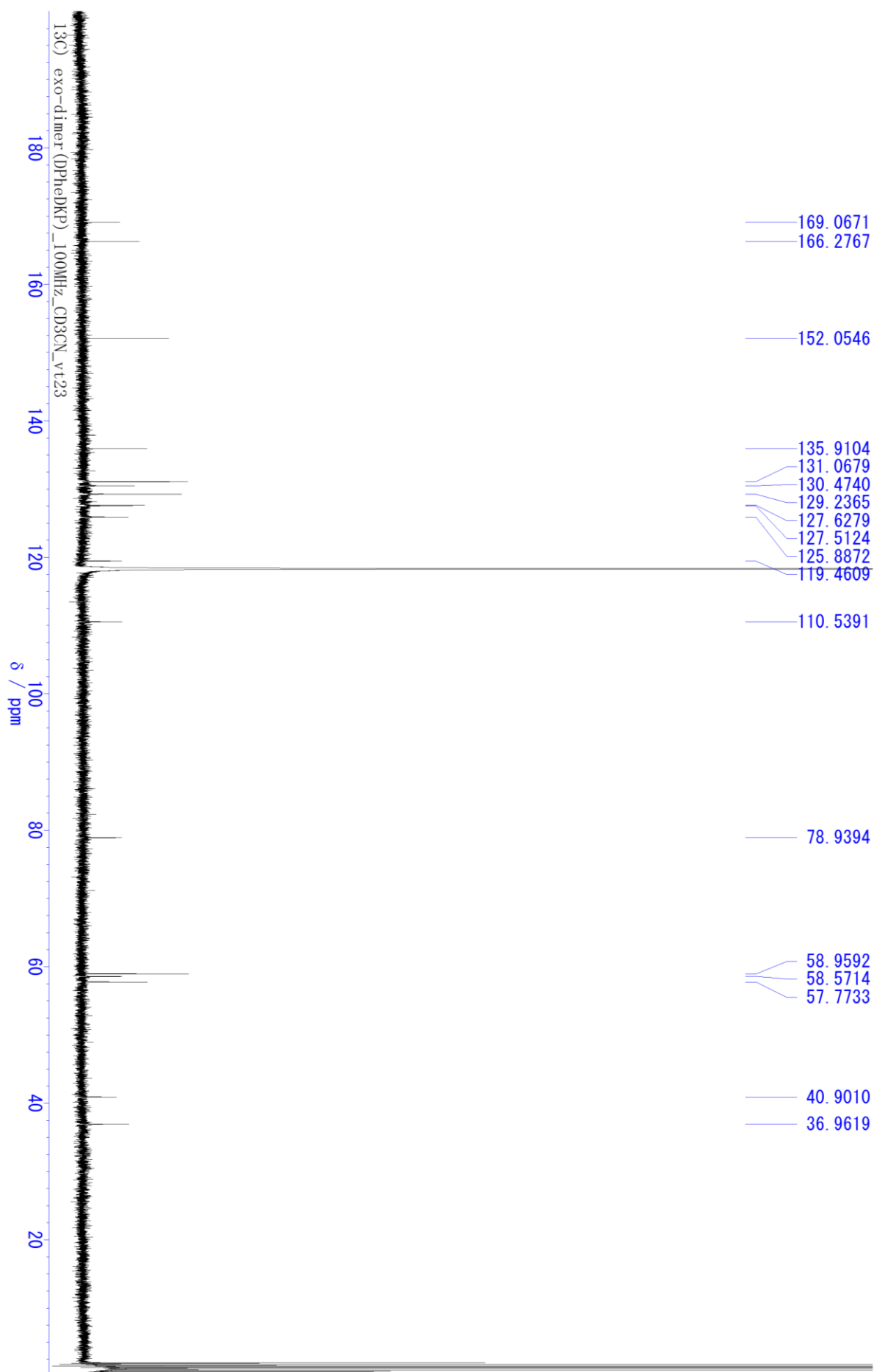


Figure S45. A ¹H-NMR spectrum of **3-8** in CD₃CN



Figure

S46. A ¹³C-NMR spectrum of **3-8** in CD₃CN

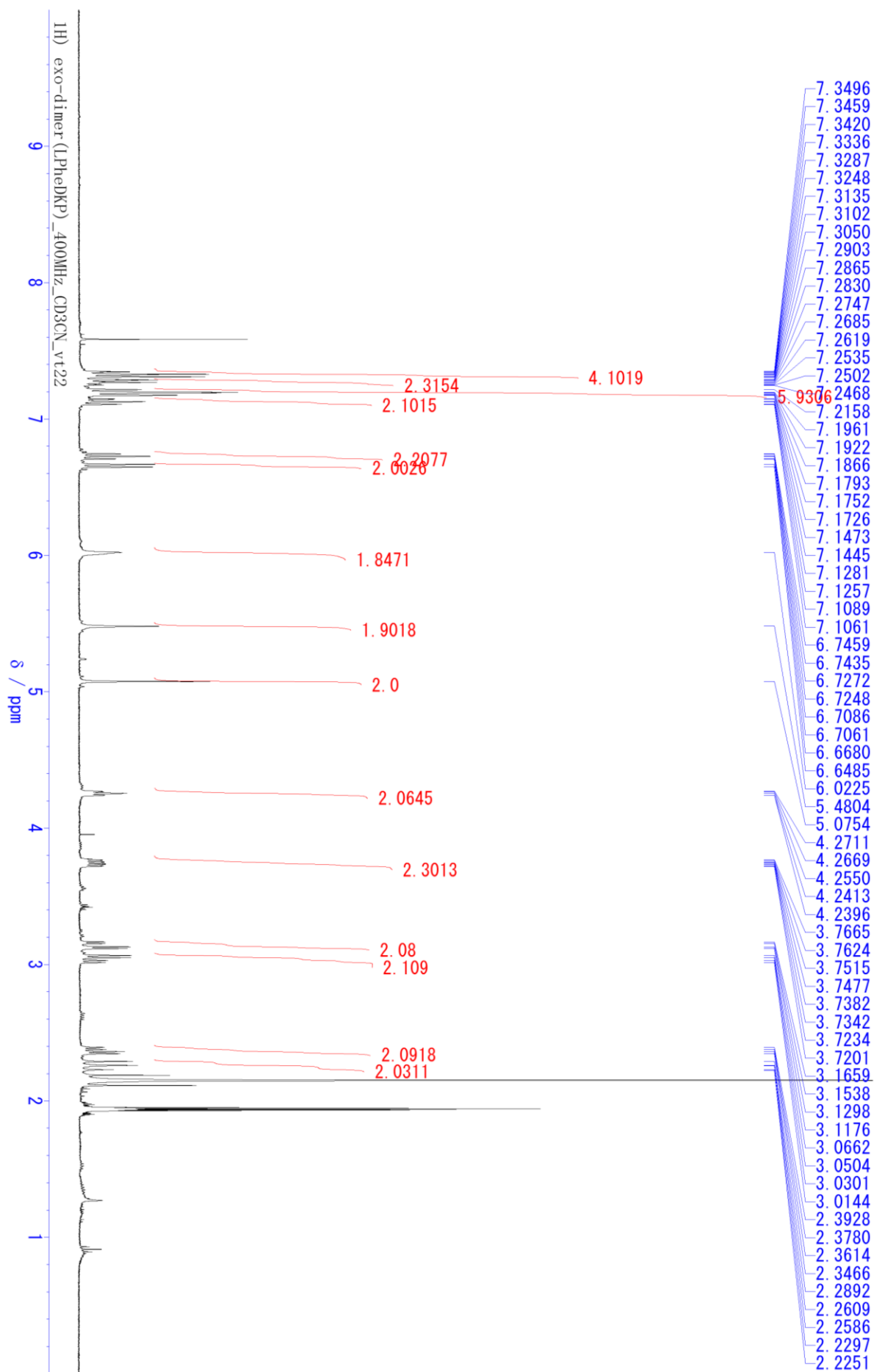


Figure S47. A ¹H-NMR spectrum of **3-9** in CD₃CN

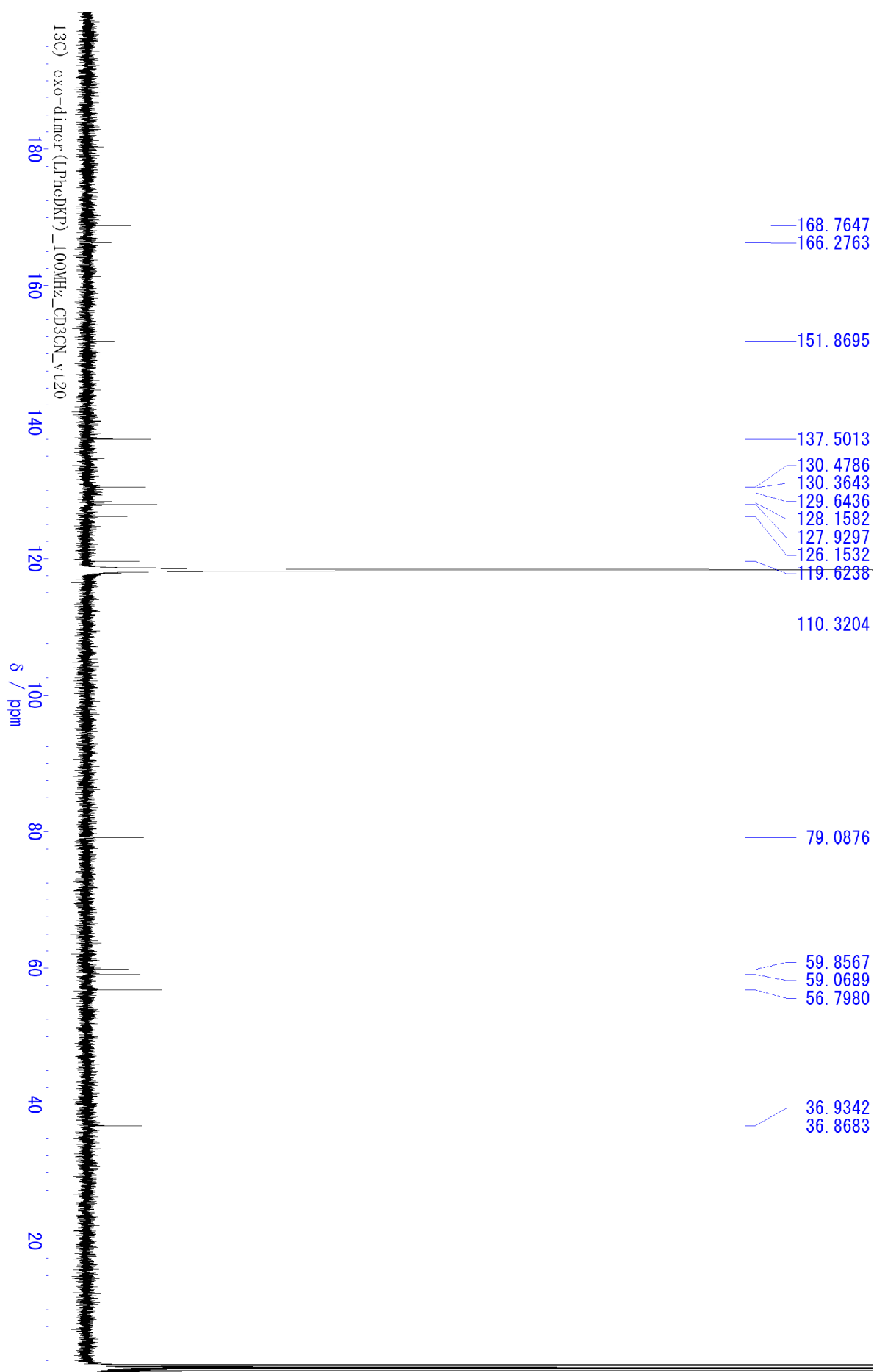


Figure S48. A ¹³C-NMR spectrum of **3-9** in CD₃CN

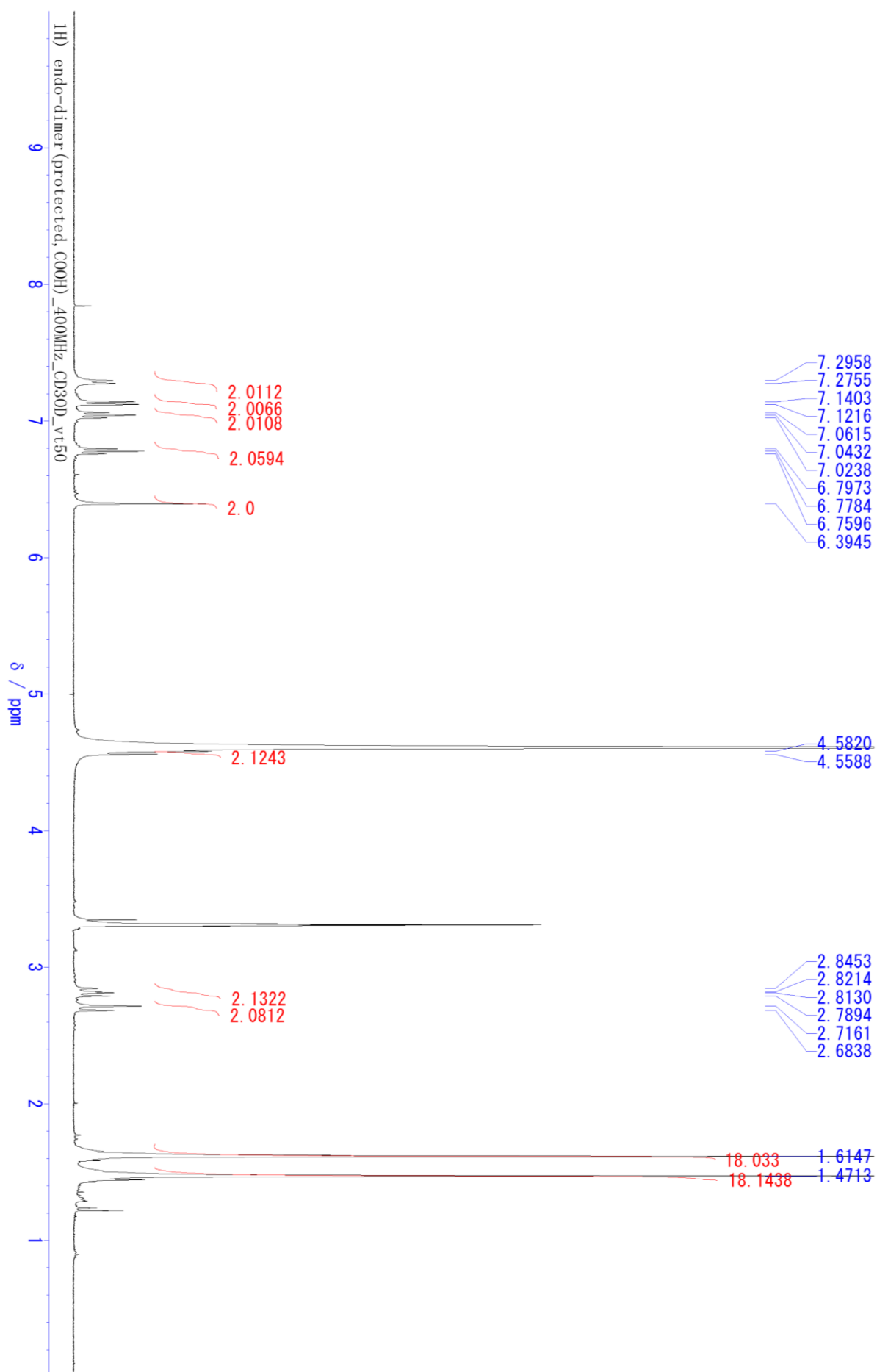


Figure S49. A ^1H -NMR spectrum of 3-21 in CD_3OD

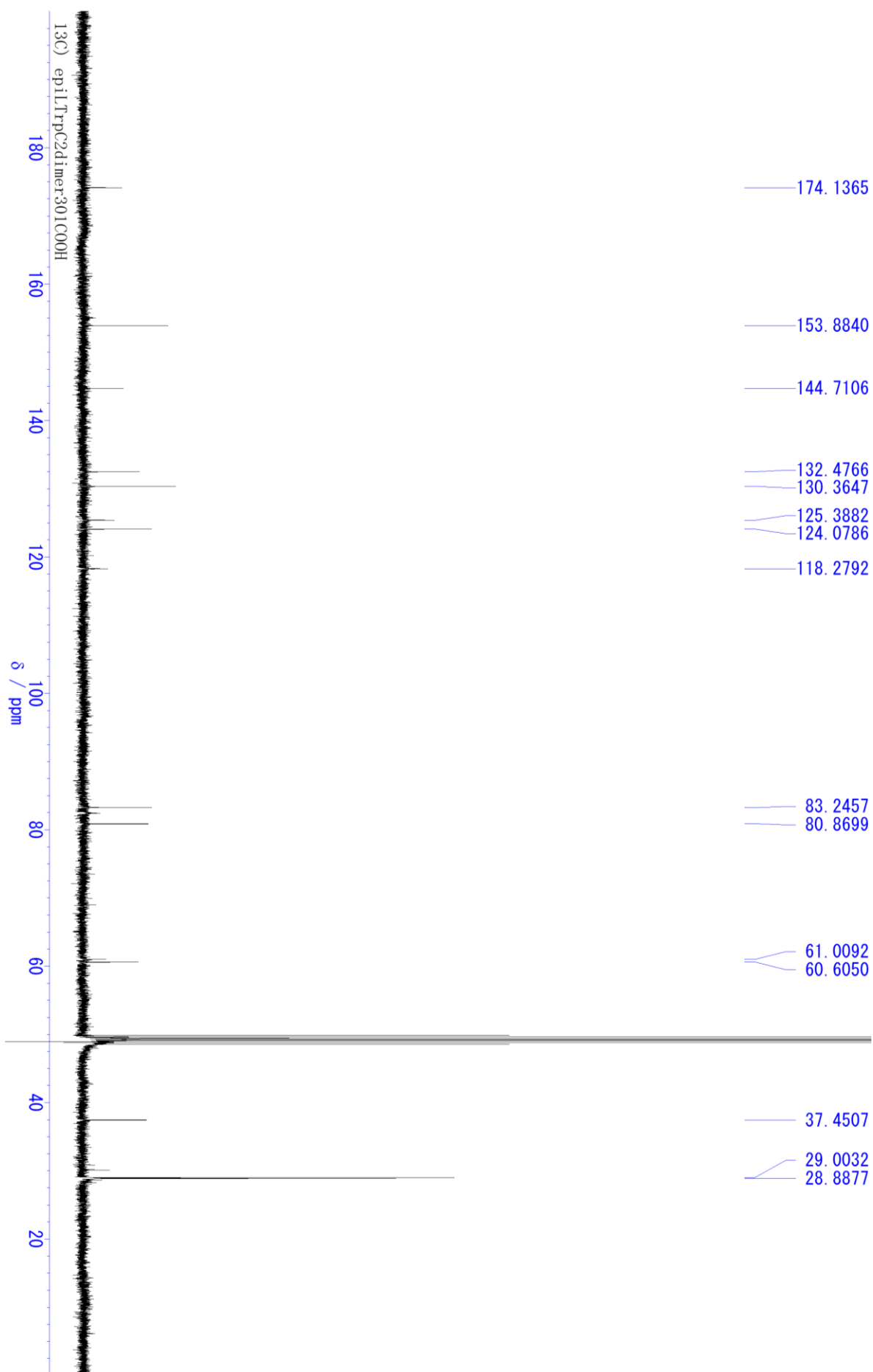


Figure S50. A ¹³C-NMR spectrum of **3-21** in CD₃OD

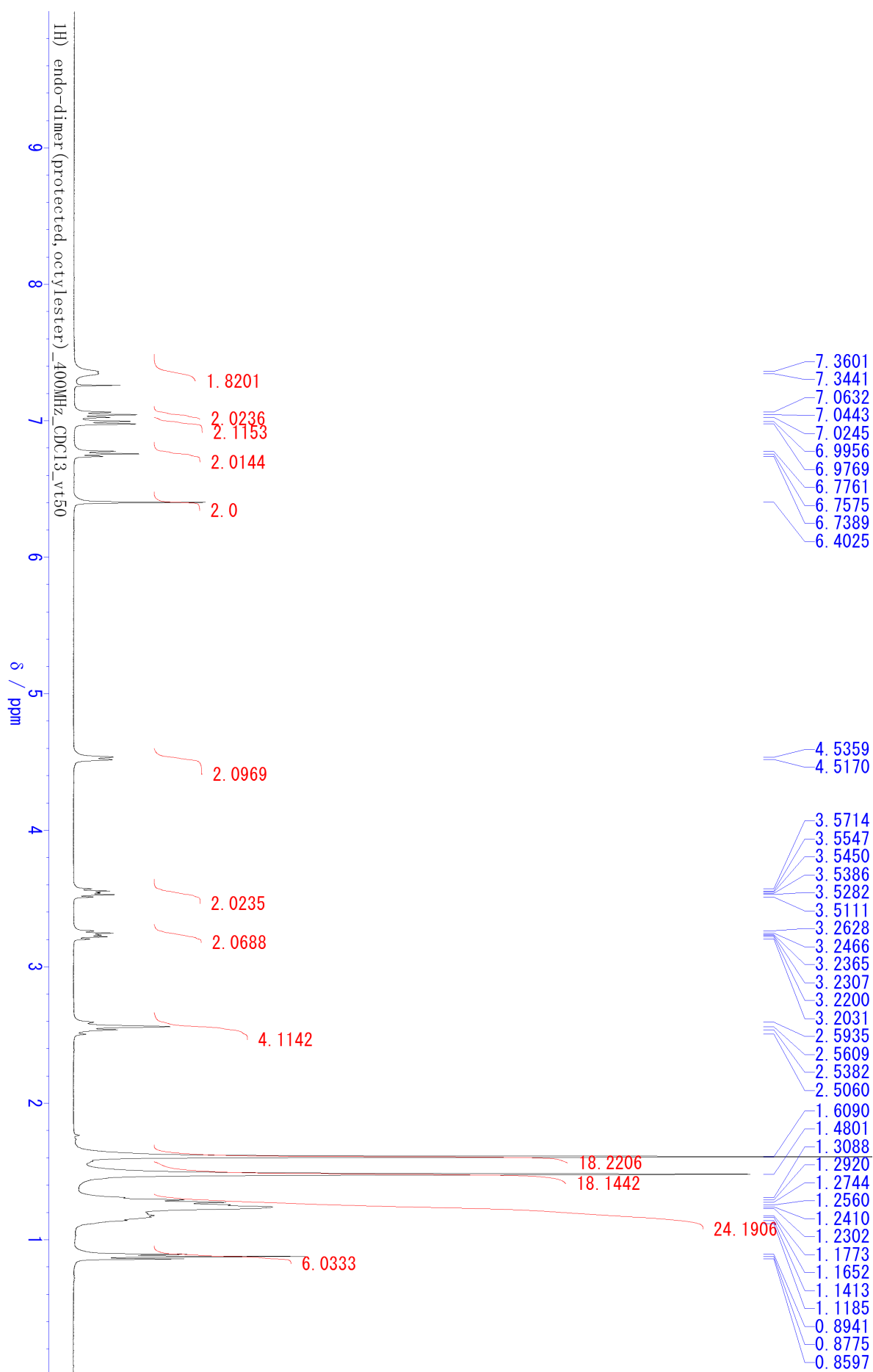


Figure S51. A ^1H -NMR spectrum of 3-22 in CDCl_3

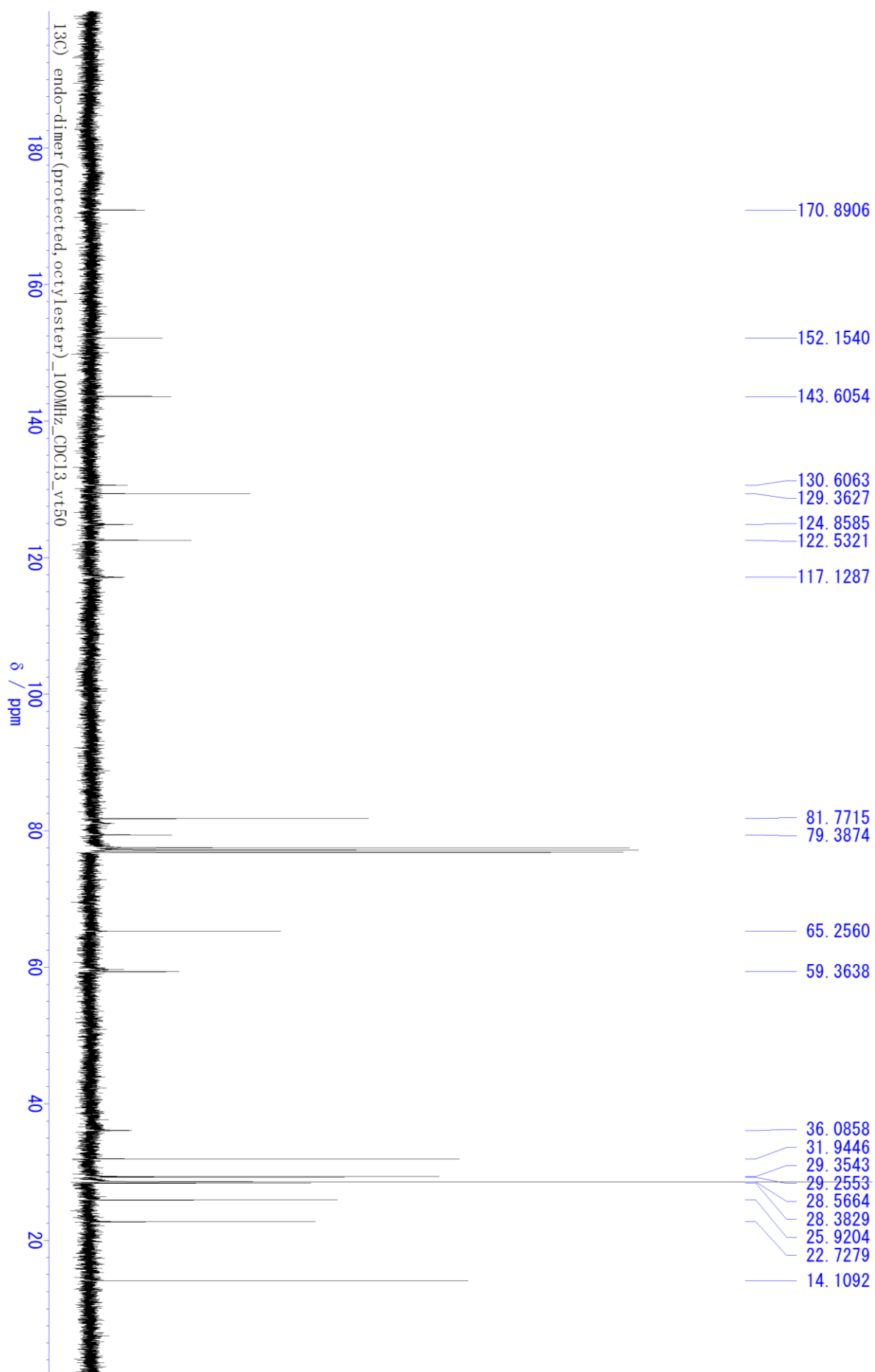


Figure S52. A ¹³C-NMR spectrum of **3-21** in CDCl₃

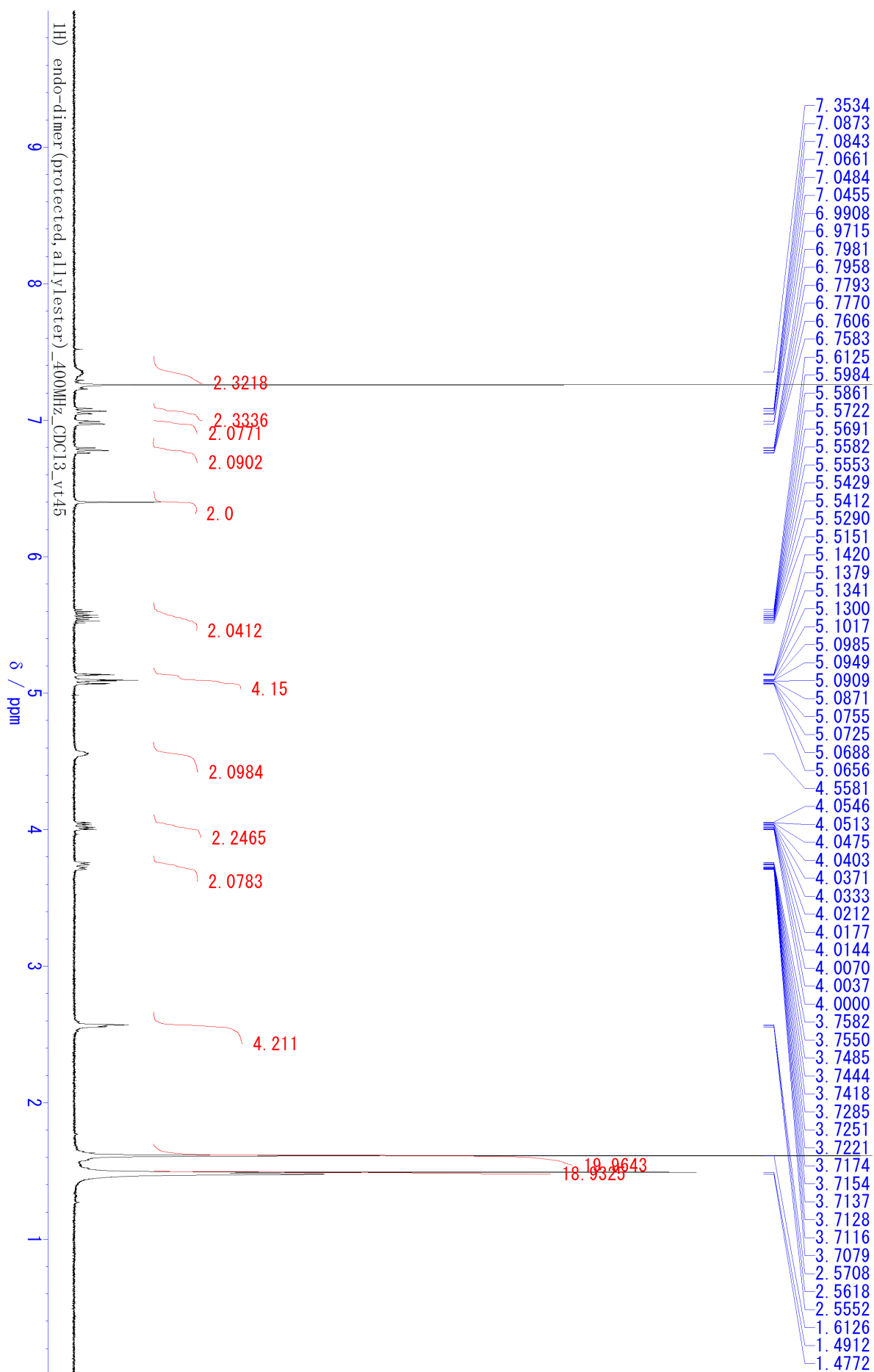


Figure S53. A ^1H -NMR spectrum of 3-23 in CDCl_3

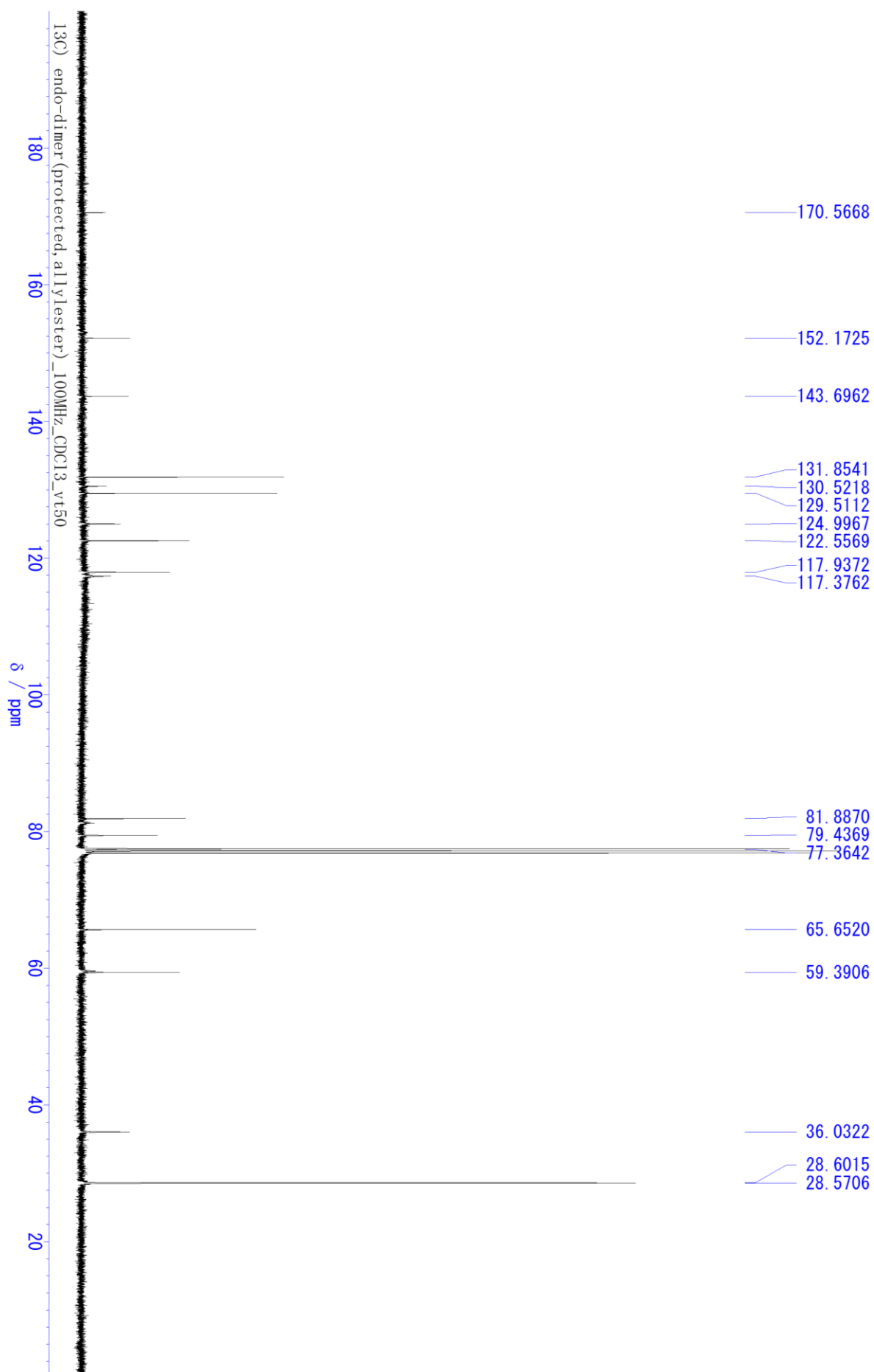


Figure S54. A ¹³C-NMR spectrum of **3-23** in CDCl₃