

氏名	くらはやし かずき 倉林 一樹
学位の種類	博士(薬科学)
学位記番号	博士甲 第 号
学位授与の日付	2023年3月10日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
学位論文題目	グリコシルホウ酸塩を用いたアリール C-グリコシド合成法の開拓
論文審査委員	(主査) 教授 須貝 威 (農学博士) (副査) 教授 熊谷 直哉 (博士(薬学)) 准教授 長瀬 健一 (博士(工学))
慶應義塾大学学位規程第11条に基づく審査委員会実施日： 2023年 1月 23日	

## 論文内容の要旨

### 1. 研究の背景

C-グリコシドとは、糖の1位とアグリコン部が炭素-炭素結合で連結した化合物群の総称である。これらのうち、芳香環と連結した化合物はアリール C-グリコシドと呼ばれ、生物活性を示す化合物が天然資源から数多く見出されている (Figure 1)。例えば、ビテキシンは *Vitex littoralis* の木部より単離されたフラボン C-グリコシドで、抗炎症作用を有する。また、マンギフェリンは *Mangifera indica* の葉より単離されたキサントン C-グリコシドで、抗がん作用を示す。

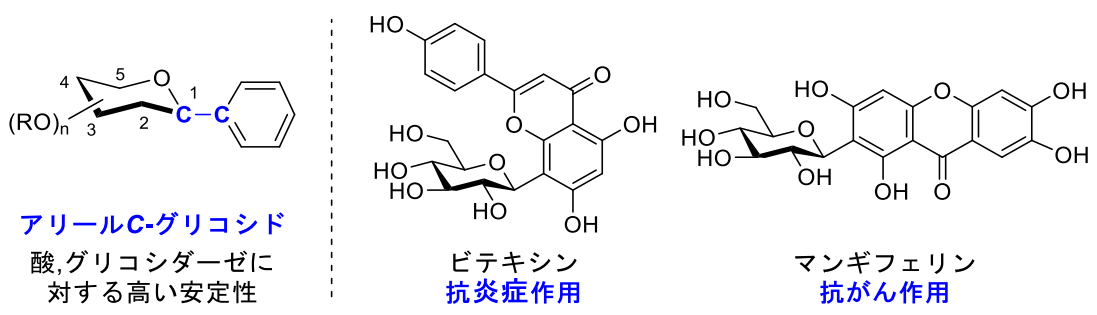


Figure 1. アリール C-グリコシド

糖とアグリコンが炭素-酸素結合で連結した O-グリコシドと比較し、C-グリコシドは消化管内の酸性や体内のグリコシダーゼによって加水分解されにくく、医薬へ応用されている。例えば、天然由来の O-グリコシドであるフロリジンをシーズとして、SGLT2 選択的阻害作用を有するカナグリフロジンなどの糖尿病治療薬が開発された (Figure 2)。

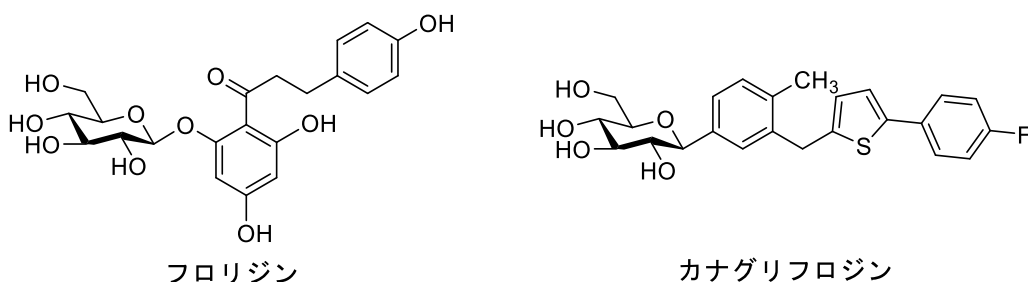
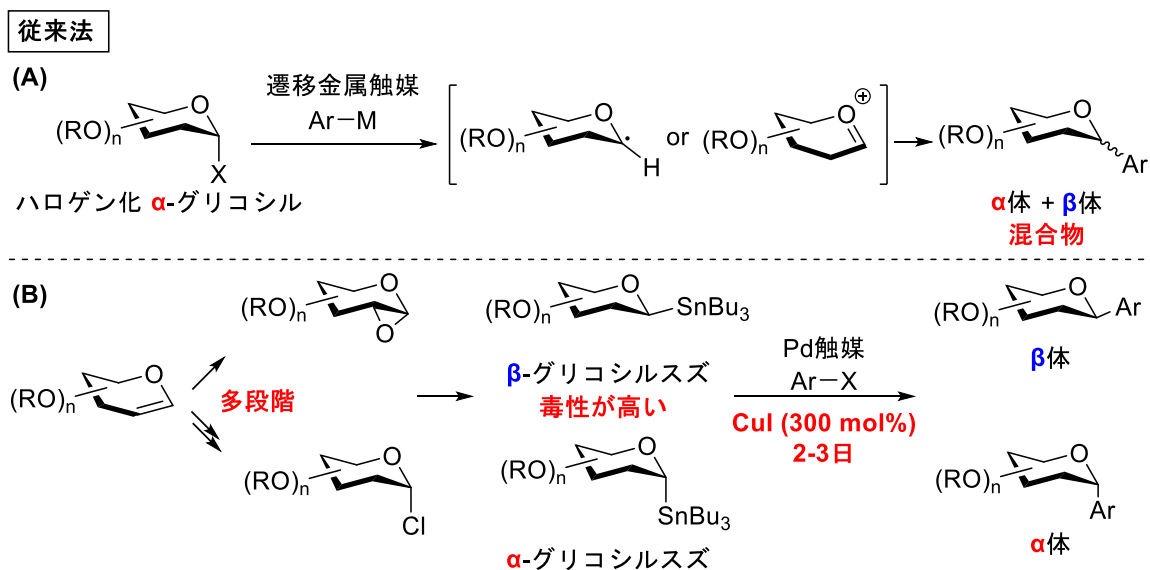


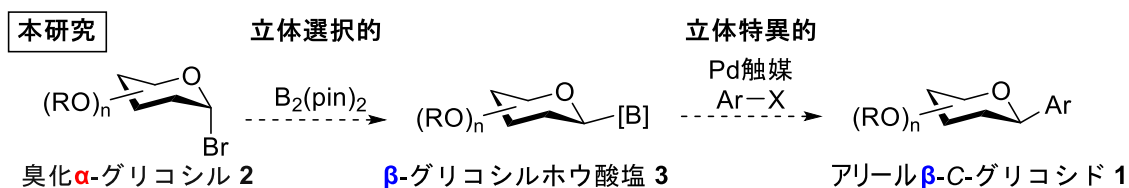
Figure 2. 糖尿病治療薬として用いられているアリール C-グリコシド

このようにアリール C-グリコシドは、さまざまな天然物や医薬にみられる重要な骨格構造であり、これまで数多くの合成法が開拓されてきた。C-グリコシドには、1位の立体化学が異なる  $\alpha$  体と  $\beta$  体の立体異性体が存在し、天然物や医薬の C-グリコシドはそのうち一方であることから、望みの立体異性体のみを合成する手法が理想的である。しかし、従来の合成法の多く (Scheme 1A) は、ハロゲン化グリコシルからラジカルまたはカチオン中間体を経由し、両異性体の混合物を与える非立体特異的な合成法であった (Scheme 1A)。従来法の中で唯一、Walczak らの有機スズ試薬 (グリコシルスズ) を用いる方法 (Scheme 1B) が、 $\alpha$  体のグリコシルスズからは  $\alpha$  体、 $\beta$  体のグリコシルスズからは  $\beta$  体のみを与える立体特異的合成法で、単一立体化学のグリコシルスズを用いれば、望みの立体異性体のみを合成できる。しかし、前駆体のグリコシルスズの合成に多段階を要し、その有機スズ試薬は毒性が高く、さらに、過剰量の銅試薬を用いた上、反応時間が 2-3 日と長い、という数々の問題が残されている。



Scheme 1. アリール C-グリコシドの従来合成法における問題点

このような背景のもと著者は、有機スズ試薬と比較し毒性が低い有機ホウ素試薬を用いた、アリール  $\beta$ -C-グリコシド **1** の2段階合成法の開拓を目指し、博士論文研究に取り組んだ。まず、臭化  $\alpha$ -グリコシル **2** をホウ素化し、糖の1位がホウ素原子で置換された  $\beta$ -グリコシルホウ酸塩 **3** を立体選択的に合成する。**3** とハロゲン化アリールのクロスカップリングによりアリール  $\beta$ -C-グリコシド **1** を立体特異的に合成する (Scheme 2)。



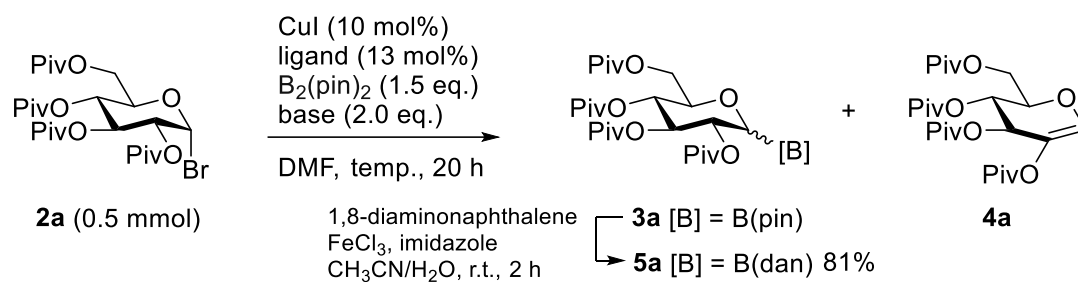
Scheme 2. アリール  $\beta$ -C-グリコシドの立体特異的2段階合成法

## 2. 結果と考察・展望

### 1. $\beta$ -グリコシルホウ酸塩の立体選択的合成

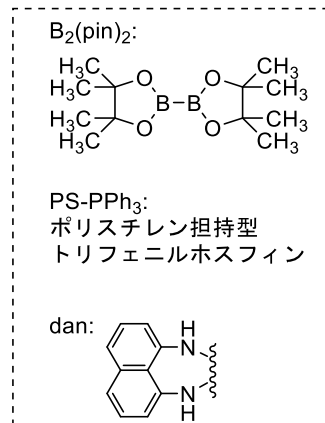
ヒドロキシ基をピバロイル基で保護した臭化  $\alpha$ -グリコシル **2a** を原料とし、触媒として  $\text{CuI}$ 、ホウ素化剤として  $\text{B}_2(\text{pin})_2$  を用い、反応条件を検討した (Table 1)。まず、室温下、配位子として  $\text{PPh}_3$ 、塩基として  $\text{CH}_3\text{OLi}$  を用いた (エントリー1)。反応は複雑な混合物を与えたが、質量分析により目的物が生じていることが示唆された。塩基を  $t\text{-BuOLi}$  に変更すると、**3a** が収率 36%、 $\alpha$  体と  $\beta$  体の比が 4:5 で得られた (エントリー2)。副生

Table 1. ホウ素化の条件検討



エントリー	配位子	塩基	温度 (°C)	収率 (%) <sup>a</sup>	
				<b>3a</b> (α/β)	<b>4a</b>
1	PPh <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub> OLi	25	complex mixture	
2	PPh <sub>3</sub>	<i>t</i> -BuOLi	25	36 (4/5)	33
3	PS-PPh <sub>3</sub>	<i>t</i> -BuOLi	25	56 (13/15)	16
4	PS-PPh <sub>3</sub>	<i>t</i> -BuOLi	-20	80 (5/2)	0
5	PS-PPh <sub>3</sub>	<i>t</i> -BuONa	-20	8 (3/1)	0
6	PS-PPh <sub>3</sub>	<i>t</i> -BuOK	-20	0 (-)	6
7	PS-PPh <sub>3</sub>	TMSOLi	-20	86 (5/2)	0

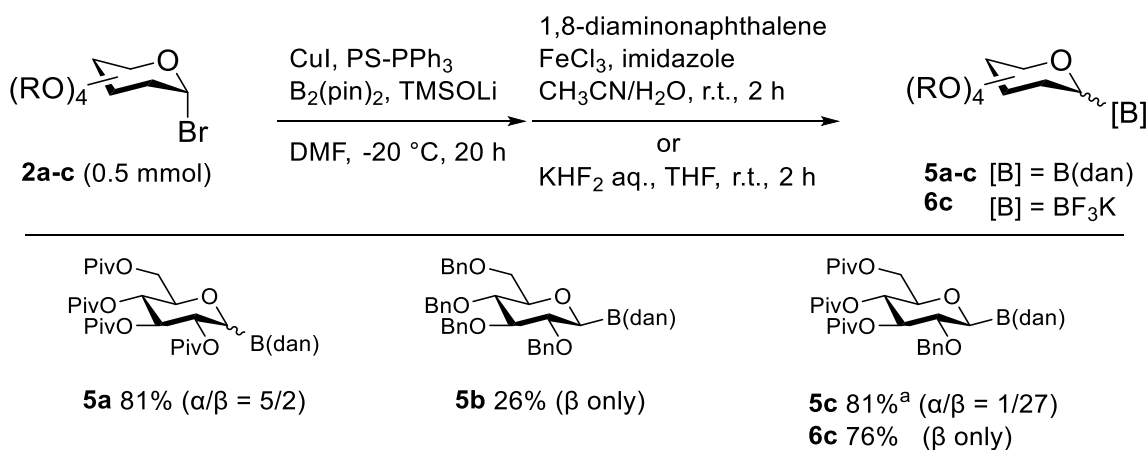
a) 内部標準を用い、粗生成物の<sup>1</sup>H NMRより算出。



成物として、グルカール **4a** が 33% 生じた。**3a** はシリカゲルカラムクロマトグラフィーによる精製条件に不安定で単離困難であったため、収率は基準物質を用い、<sup>1</sup>H NMR の積分値の比から決定した。配位子をポリスチレン担持型トリフェニルホスフィン (PS-PPh<sub>3</sub>) へ変更すると、**3a** の収率は 56% に向上した (エントリー 3)。反応温度を -20 °C まで下げたところ、**4a** の生成は大幅に抑制され、**3a** が 80% の収率で得られた (エントリー 4)。また、α 体と β 体の生成比は 3:1 と、室温条件と比較し α 体が増加した。塩基を *t*-BuONa、*t*-BuOK、TMSOLi へ変えると、TMSOLi の場合に **3a** が 86% と最も高い収率で得られた (エントリー 5-7)。以上の結果より、エントリー 7 の条件が最適であると結論した。**3a** のホウ素の保護基をピナコールから 1,8-ジアミノナフタレンに変換し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで精製し、**5a** を 81% の収率で単離した。

**3a**、**5a** が高い収率で得られたものの、生成物は α 体と β 体の比が 5:2 の混合物であったので、糖の保護基を変えて β 体の生成比の向上を検討した (Table 2)。電子供与性のベンジル基で保護した臭化グリコシル **2b** を用いたところ、β 体の **5b** のみが選択的に得られたが、収率は 26% と低かった。ベンジル基の電子供与性により原料が不安定化したと考え、2 位以外の保護基をピバロイル基とした **2c** を用いたところ、81% の収率で β 体の **5c** を選択的に得ることに成功した。Pd 触媒によるクロスカップリングに用いる目的で、トリフルオロホウ酸塩 **6c** への変換を行った。**2c** のホウ素化で得られたピナコラートエステル **3c** の粗生成物に KHF<sub>2</sub> を作用させ、ペンタンで再沈殿し、76% の単離収率で **6c** を β 選択的に得た (Scheme 2)。

Table 2. β-選択性向上の検討

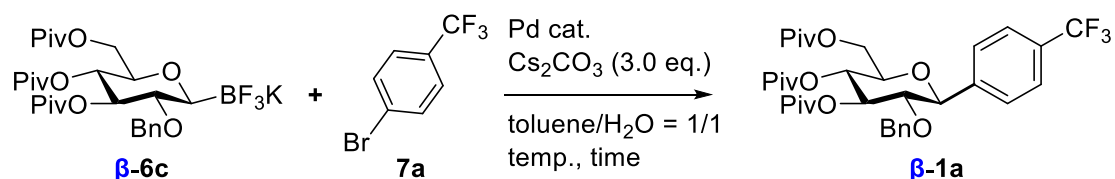


a) 主ジアステレオマーの単離収率。

## 2. $\beta$ -グリコシルホウ酸塩を用いた $\beta$ -C-グリコシドの立体特異的合成

**6c** とプロモトリフルオロベンゼン **7a** を基質とし、トルエン/水の混合溶媒中、塩基として  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$  を用い、Pd 触媒によるクロスカップリングの条件を検討した (Table 3)。まず、 $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4$  を触媒として用い、 $100\text{ }^\circ\text{C}$  で 24 時間反応させたところ、**1a** の  $\beta$  体のみが 7% の収率で得られた (エントリー1)。立体障害の大きいトリ *t*-ブチルホスフィン、Xphos、A-taPhos をそれぞれ用いると、A-taPhos を用いた場合に収率が向上し、**1a** が 34% の収率で得られた (エントリー2-4)。マイクロ波反応装置を用い、温度を  $120\text{ }^\circ\text{C}$  へ上げて 3 時間反応すると、**1a** が 84% の収率で得られた (エントリー5)。最後に、臭化アリール **7a** に対し **6c** を 1.05 当量用いると、**1a** の単離収率は 86% であった (エントリー6)。以上の結果より、エントリー6 の条件が最適であると結論した。

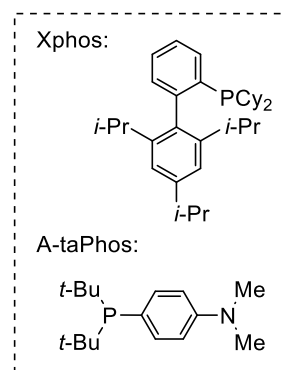
Table 3. 立体特異的クロスカップリングの条件検討



エントリー	Pd触媒 (5.0 mol%)	配位子 (10 mol%)	温度 (°C)	時間 (h)	収率 (%) <sup>a</sup> <b>1a</b>
1	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	-	100	24	7
2	[Pd(allyl)Cl] <sub>2</sub>	<i>t</i> -Bu <sub>3</sub> P·HBF <sub>4</sub>	100	24	15
3	[Pd(allyl)Cl] <sub>2</sub>	XPhos	100	24	17
4	PdCl <sub>2</sub> (A-taPhos) <sub>2</sub>	-	100	24	34
5 <sup>b</sup>	PdCl <sub>2</sub> (A-taPhos) <sub>2</sub>	-	120	3	84
6 <sup>b</sup>	PdCl <sub>2</sub> (A-taPhos) <sub>2</sub>	-	120	3	86 <sup>c</sup>

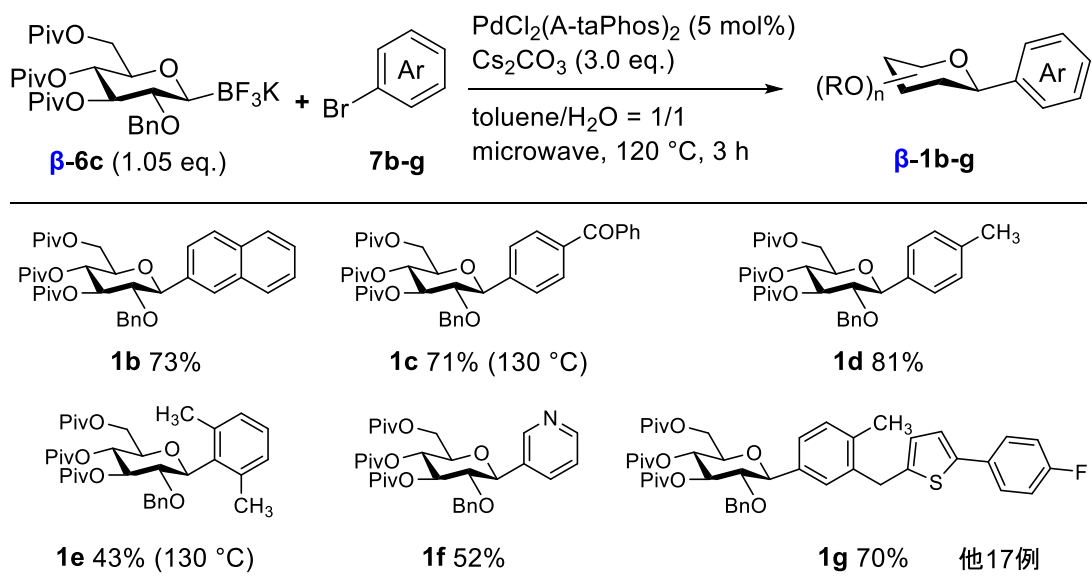
a) 内部標準を用い、粗生成物の<sup>1</sup>H NMRより算出.

b) マイクロ波照射装置. c) 単離収率.

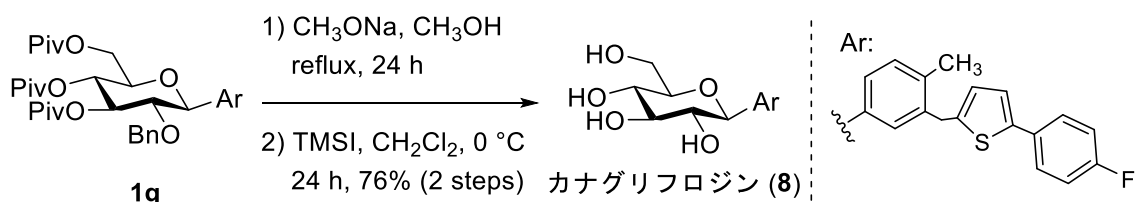


得られた最適条件下、さまざまな官能基を有する臭化アリール **7b-7e** や芳香族ヘテロ環を有する臭化物 **7f**, **7g** を用い、**6c** とクロスカップリングを行った (Table 4)。2-ブロモナフタレン **7b** を基質とした場合、**1b** が 73% の収率で得られた。電子求引性のカルボニル基や電子供与性のメチル基を有する臭化アリール **7c**, **7d** を用いると、対応する **1c**, **1d** をそれぞれ 71%、81% の収率で与えた。立体障害の大きい **7e** も適用可能であり、**1e** を収率 43% で与えた。芳香族ヘテロ環のピリジン、チオフェンを有する臭化物 **7f**, **7g** との反応も進行し、52%、70% の収率で対応する **1f**, **1g** を与えた。

Table 4. さまざまな臭化アリールとのクロスカップリング



**$\beta$ -1g** は糖尿病治療薬として用いられているカナグリフロジン(**8**)へ誘導した。**1g** に対し、メタノール溶媒中ナトリウムメトキシドを作用させ、加溶媒分解によりピバロイル基を脱保護した後、ルイス酸として TMSI を作用させてベンジル基を脱保護し、**8** を収率 76% で得た (Scheme 3)。



Scheme 3. カナグリフロジンの合成

### 【結論】

臭化  $\alpha$ -グリコシルを原料とし、Cu 触媒を用いたホウ素化により、 $\beta$ -グリコシルトリフルオロホウ酸塩を立体選択的に高い収率で合成した。 $\beta$ -トリフルオロホウ酸塩と臭化アリールを基質とし、Pd 触媒を用いたクロスカップリングにより、アリール  $\beta$ -C-グリコシドを立体特異的に高い収率で得た。芳香環上にさまざまな官能基を有する臭化アリールや芳香族ヘテロ環を有する臭化物との反応においても、良好な収率で  $\beta$ -C-グリコシドを与えた。最後に、糖尿病治療薬として用いられているカナグリフロジンに本手法を応用し、 $\beta$  体のみを立体特異的に得た。

本手法は毒性の低い有機ホウ素試薬、触媒量の金属試薬を用い、臭化グリコシルから短段階、短時間で効率的にアリール  $\beta$ -C-グリコシドを立体特異的に合成できる手法であ

る。アリール  $\beta$ -C-グリコシド構造を有するさまざまな医薬品や生物活性物質の合成に寄与すると考える。

## 論文審査結果の要旨

審査委員会による学位論文の審査ならびにこれに関連する試験は、2023年1月23日（月）に、慶應義塾大学薬学部3号館5階大学院セミナー室にて、主査1名、副査2名により非公開で実施された。本審査では、まず申請者が有機薬化学講座で行った「グリコシルホウ酸塩を用いたアリール C-グリコシド合成法の開拓」に関し発表した。発表では、研究の背景、課題、研究計画、研究過程並びに研究成果、考察が整然と示された。

はじめに研究の背景として、アリール C-グリコシド構造を有する生物活性物質、医薬品とそれらの重要性および有用性、従来の合成法の問題点が述べられた。それらの問題点の解決策として、申請者の取り組んだ2つの課題、すなわち  $\beta$ -グリコシルホウ酸塩の立体選択的合成法と、アリール  $\beta$ -C-グリコシドの立体特異的合成の開拓が示された。その後、遂行した2つの研究課題について、順に発表した。

前半では、「 $\beta$ -グリコシルホウ酸塩の立体選択的合成」について発表した。従来のホウ素化糖の合成では、臭化  $\alpha$ -グリコシルからホウ素化糖への変換に多段階を要していた。これに対し申請者は、臭化  $\alpha$ -グリコシルを基質とし、ポリスチレン担持型トリフェニルホスフィン配位子とする銅触媒、ビスピナコラートジボロン、リチウムトリメチルシラノレートを用い、ホウ素化糖を1段階で合成することに成功した。糖のヒドロキシ基の保護基を変更することにより、 $\alpha$ 体と $\beta$ 体のホウ素化糖はそれぞれ作り分け可能で、ホウ素の保護基はピナコールエステルからトリフルオロホウ酸塩へ容易に変換できた。ホウ素化の立体選択性に関する反応機構の考察も述べられた。

後半では、「アリール  $\beta$ -C-グリコシドの立体特異的合成」について発表した。ホウ素化糖を基質とする、立体特異的クロスカップリングは従来達成されていなかった。申請者は、前半に示した方法で合成した  $\beta$ -グリコシルホウ酸塩を基質とし、トルエン/水を反応溶媒に、A-taPhosを配位子とするパラジウム触媒、炭酸セシウムを用い、マイクロ波合成装置による加熱条件下、臭化アリールとのクロスカップリングにより、アリール  $\beta$ -C-グリコシドの立体特異的合成に成功した。さまざまな臭化アリールとのクロスカップリングが可能で、同法を用いた糖尿病治療薬カナグリフロジンの合成が述べられた。クロスカップリングの反応機構に関する考察も述べられた。

最後に博士論文発表の内容を総括した。銅触媒を用いた立体選択的ホウ素化とパラジウム触媒を用いた立体特異的クロスカップリングにより、 $\beta$ -グリコシルホウ酸塩を用



いたアリール  $\beta$ -C-グリコシド合成法を開拓した。本法は、アリール  $\beta$ -C-グリコシド構造を有する医薬品や生物活性物質の合成に寄与する成果である、と述べた。

発表に続き、論文内容、発表に関し、以下の点について質疑、議論、並びに指摘が行われ、申請者はそれらに対し応答した。

ホウ素化反応については、基質の合成法、銅触媒の配位子・塩基・ホウ素化試薬などの反応条件の選択・検討範囲とそれらの効果に関する考察、糖の保護基の効果、結果の詳細、副生成物の生成機構、反応機構解明に関する検討と考察、他の糖への応用性が質疑応答された。クロスカップリングについては、パラジウム触媒の配位子の選択の考え方と効果に関する考察、マイクロ波・温度・二相系溶媒の効果と考察、副生成物の生成、反応機構に関する考察が質疑応答された。全体的な点としては、申請者と共同研究者それぞれの寄与、カナグリフロジンの既存の合成法との比較、開拓した合成法の商業的または工業的応用性、関連する今後の展開、残された問題、改善点と解決するアイデア、将来的な視点について質問された。

代表的な質疑応答の要点を以下に記す。

・ピナコラートエステルより安定な保護基を持つホウ酸エステルを用いたホウ素化は検討したか？

安定なホウ酸エステルは立体的に嵩高いので反応性が低く、収率が低下した。

・パラジウム触媒の配位子を選定する際の基準は？

文献の報告例と、配座数、電子的効果、立体的効果を基準として選んだ。ただし、一通りの配位子は検討し実験的に検証した。単座配位子で、立体的に嵩高く、電子豊富な配位子が高い収率を与え、反応機構の観点からもそのような配位子が望ましいことが支持される。

・クロスカップリングにおけるマイクロ波の効果は？

マイクロ波の効果に関する過去の研究より熱的效果と考えられる。それ以外の効果として、オイルバスを用いた場合とマイクロ波反応装置を用いた場合の反応容器の違いによる効果もある。

・クロスカップリングにおいて溶媒としてトルエンと水の二相系を用いた場合に他の溶媒より良い結果を与えた理由は？

水溶性の有機溶媒を用いた一相系の反応では、塩基によりピバロイル基の加水分解が進行すると考えられる。テトラヒドロフランや1,4-ジオキサンなどはパラジウムに配位し、反応を阻害したことが考えられる。

これらを含め、いずれの質疑に対しても、申請者は適切に議論、回答した。

学位論文の記述内容については、マイクロ波反応装置を用いた反応条件において、マイクロ波、反応容器が結果に与える効果について考察の追記が求められ、適切に修正されたことを審査委員全員が確認した。

倉林君の学位論文・発表は、以下のようにまとめられる。生物活性物質、医薬品の構造として重要なアリアル β-C-グリコシド合成法の開拓を目的とし、β-グリコシルホウ酸塩の立体選択的合成法と、アリアル β-C-グリコシドの立体特異的合成という2つの課題を達成した。第一に、臭化 α-グリコシルを基質とし、銅触媒を用いた立体選択的ホウ素化により β-グリコシルホウ酸塩を合成する手法を開拓した。第二に、β-グリコシルホウ酸塩を用い、パラジウム触媒による立体特異的クロスカップリングにより、アリアル β-C-グリコシドを合成する手法を開拓した。本変換法は、アリアル β-C-グリコシド構造を持つ医薬品およびその候補物質の合成に有用であり、創薬への応用が期待される。

提出論文並びに発表に対し、2名の副査からは以下のような見解が示された。

熊谷教授：複雑な構造を有し、分析も容易でない糖を基質とする合成で挑戦的課題である。β-グリコシルホウ酸塩の立体選択的合成と、β-グリコシルホウ酸塩の立体特異的クロスカップリングという2つの課題を達成し、医薬品の合成まで応用した。研究の背景、課題、成果、考察に関する発表も十分であり、博士の学位に値すると判断した。

長瀬准教授：研究内容、学位論文、発表、いずれもよく練られ、完成度が高い。開拓した合成法は工業的な観点からも魅力的な方法である。申請者が主体的に発案、実施、遂行して得た成果であり、博士の学位にふさわしいと判断した。

公聴会は慶應義塾大学薬学部中講堂にて、2023年2月21日（火）に行われ、約25分間発表した。その後大学院指導教員より、α-アノマーの立体化学を有するC-グリコシドへの適合性、ガラクトシド合成の際収率低下に与えた因子、芳香環に脱離基として導入したハロゲン原子の種類と影響、カナグリフロジンなど医薬のプロセススケール合成への適用可能性、ホウ素化グリコシドのアノマー位立体化学決定手法の確認、C-グリコシド天然物の生合成経路と本手法の比較、生体内における酸化的代謝、マンノシド合成の可能性、マイクロ波照射の原理と意義、カップリングにおける二相系反応の利点とその意義、プロセス全体として従来合成法より優れた点、劣っている点などについて質問された。申請者は学位請求論文の内容を引用し、追加資料を映写・供覧するなどして、概ね適切に議論、回答した。

以上の経緯を踏まえ、倉林一樹君提出の学位論文の内容は博士の学位を授与するに値するものであると結論された。

## 論文目録

### 【主論文に関する原著論文】

K. Kurahayashi, K. Hanaya, T. Sugai, G. Hirai, S. Higashibayashi, “Copper-Catalyzed Stereoselective Borylation and Palladium-Catalyzed Stereospecific Cross-Coupling to Give Aryl C-Glycosides”, *Chem. Eur. J.* **2022**, 28, e202203376.