

平成 30 年 6 月 11 日現在

機関番号：17102

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K17857

研究課題名(和文) 抗真菌物質アンフィジノール3の全合成による立体化学の解明および構造活性相関

研究課題名(英文) Structure Analysis and Structure-Activity Relationship Study of an Antifungal Natural Product Amphidinol 3

研究代表者

海老根 真琴 (Ebine, Makoto)

九州大学・理学研究院・助教

研究者番号：70545574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：海洋微生物である渦鞭毛藻 *Amphidinium klebsii* が生産する有機化合物アンフィジノール3は、抗真菌活性を持ち、新たな抗真菌薬開発への応用が期待される化合物である。しかし、その立体構造の一部には疑義が持たれ、全合成も達成されておらず、また巨大な分子のどの部分が活性発現に重要なのか明らかになっていなかった。我々は有機合成化学反応を駆使して、部分構造の合成と分光学的データ解析を行い、正しい構造を明らかにした。さらに全合成によって全立体構造の確認を行った。また、人工構造類縁体の合成と活性評価から、活性発現のためには2つのエーテル環の両方が必須であることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Amphidinol 3 (AM3) is an antifungal marine natural product isolated from the dinoflagellate *Amphidinium klebsii*. Because of its complex structure and huge molecular size, the determined structure needs to be confirmed. Actually, we previously revised the C2 and C51 configuration by chemical synthesis of partial structure and its chemical correlation, mainly using NMR analysis.

In this research, we carried out 1) the synthesis of C31-C67 part of AM3 and its C32-C38 diastereomer, 2) the degradation of synthetic intermediates to give C33-C50 fragments of proposed AM3 and its and C32-C38 diastereomer, 3) the comparison of their NMR data to those of natural product. These experiments clarified the C32-C36 and C38 configurations of AM3 to be revised, which was further confirmed by first total synthesis. Moreover, structure-activity relationship study using artificial truncated analog suggested that both two THP rings are essential to induce the desired antifungal activity.

研究分野：天然物合成化学

キーワード：有機合成化学 天然物化学 構造改訂 全合成 抗真菌活性 構造活性相関

1. 研究開始当初の背景

抗真菌活性を有する海洋天然有機化合物アンフィジノール3は、細胞膜に直接作用し膜機能を破壊することでその生物活性を発現すると考えられており、新たな抗真菌薬への応用が期待される化合物である。しかし、アンフィジノール3を生産する海洋微生物から得られる量は非常に少なく、また安定して供給することも難しいため、詳細な研究とさらなる応用のためには有機合成化学を駆使した人工的な供給法を確立する必要があった。アンフィジノール3は67個の炭素鎖が途中で2つの6員環エーテル(A環およびB環)を形成し、さらに分子全体の3分の2が多数のヒドロキシ基により修飾され、残りの3分の1は共役および非共役の二重結合が集合した両親媒性の構造をしており、構造決定および化学合成は非常に難しい課題であったが、部分構造を化学合成して天然物と比較する手法で、我々はすでに二箇所の立体構造に誤りがあることを発見するとともに、正しい構造を解明してきた。また、我々は全合成研究の途中で、A/B環連結部周辺に構造的な誤りがある可能性を見出し、確認する必要が生じていた。

2. 研究の目的

(1) A/B環連結部周辺の構造確認

(2) 大きなフラグメント同士の炭素-炭素結合形成法の確立

(3) 全合成によるアンフィジノール3の合成経路の確立と真の構造の解明

(4) 各種人工類縁体の合成と生物活性評価による構造活性相関知見の集積

3. 研究の方法

(1) については、まず、最初の単離・構造決定時の方法とデータを見直した結果、提唱されているC38/C39位の相対立体配置が誤りである可能性が高いと考えられた。そこで、C38位側の立体化学が反転したC32-C38ジアステレオマー(C31-C67部分に相当)を合成し、合成済みの提出構造型C31-C67部分および天然物とNMRデータを比較することで正しい立体化学が明らかになるものと考えた。

(2) については、モデル化合物を用いた実験においてアルキルボランとハロゲン化ビニルの鈴木-宮浦カップリングが有効であると考えられたため、その方向でもう少し反応条件を精査することで、実際のフラグメント同士の連結も可能であると考えた。

(3) については、アンフィジノール3の3分の2に相当する化合物を、A/B環フラグメントとポリエンフラグメントの連結および最終的な保護基の除去を経て合成する方法をすでに確立していたため、(2)の課題さえ乗り越えることができれば同様の条件を用いることで達成可能であると考えた。

(4) については、全合成研究の合成中間体やその一部構造改変フラグメントを自由に連結することで種々の構造類縁体が容易に合成でき、それらの抗真菌活性をペーパーディスク法で評価することにより、アンフィジノール3の持つ抗真菌活性発現に必要な構造要因の解明や、より強力な活性を持ちながら簡便に合成可能な類縁体を見出すことができる考えた。

4. 研究成果

(1) 提出構造型のC31-C67部分を合成した時と同様の方法で、C32-C38ジアステレオマーの合成を行った。C32-C38位はA環部分であるため、提出構造のA環前駆体の鏡像異性体をまず合成し、そのものと既存のB環部との連結により、C32-C38部分がジアステレオマーであるA/B環化合物を合成した。さらにポリエン部分を導入し、脱保護を行うことで、C32-C38部分がジアステレオマーであるC31-C67フラグメントを合成した。しかし、そのNMRデータは天然物と一致せず、1) C32-C38ジアステレオマーはアンフィジノール3の真の構造ではない、2) 他にも構造の誤りがある、3) C32-C38ジアステレオマーは正しい構造だが、C1-C31部分の欠損が分子全体のNMRデータに影響を与えている、等の理由が考えられた。

そこで、より明快地C38/C39位の絶対立体配置を確認するためには平面構造が同じである方が良いと考え、天然物の分解物として報告されていたA環およびB環が開環した化合物(C33-C50部分に相当)に着目した。実際に、C31-C67部分およびそのC32-C38ジアステレオマーの合成中間体に対し、天然物と同様の反応条件で分解実験を行ったところ、天然物の分解物と全く同じ平面構造の化合物を合成することができ、それらのNMRデータを比較すると、C32-C38ジアステレオマーから合成した38*S*/39*R*体が天然物の分解物と完全に一致した。そのため、天然物のC38/C39位の絶対配置は、これまで提唱されていた38*R*/39*R*ではなく、38*S*/39*R*であることが明らかになった。この結果は、C32-C38ジアステレオマーが正しい立体配置であることを示しており、C32-C38ジアステレオマー型のC31-C67部分のNMRデータが天然物と一致しなかったのはC1-C30部分の欠損、特に、C30-C31二重結合の有無に起因すると推察された。

(2) A/B環部の正しい構造が明らかになったものの、やはり最終的には全合成によって全体構造を確認する必要があると考え、全合成研究に取り掛かった。全合成達成のためにはC1-C29フラグメントとC30-C52フラグメントの連結を可能とする確実なC29-C30結合形成反応の条件確立が必須であった。それまでの予備検討から、鈴木-宮浦カップリング

において、溶媒と塩基の種類および濃度が重要な要因であることが示唆されていたため、その点に留意しながら反応条件を精査した。その結果、塩基水溶液をこれまでよりも希釈状態にした場合に望む反応の進行が確認された。

(3)(2) で得られた結果を元に実際の連結反応を行ったところ、収率よく C29-C30 結合を形成することができ、無事 C1-C52 フラグメントの合成に成功した。その後、ポリエーテル部分(C53-C67 部分)を導入し、脱保護を行って、アンフィジノール 3 の世界初の全合成を達成することができた。得られた化合物の NMR データは天然物のデータと完全に一致したことから、ついにアンフィジノール 3 の全構造を明らかにすることができた。

(4) 合成中間体から新たに小さな短縮類縁体(短い親水性炭素鎖、1つの6員環エーテル、天然物と同じ長さのポリエーテルで構成)をデザイン・合成し、生物活性を評価したが、残念ながら抗真菌活性は認められなかった。これまで、細胞膜脂質と直接相互作用するポリエーテル鎖が生物活性発現に重要であることが示唆されていたが、今回の結果から、2つの6員環エーテル部分も活性発現に重要な役割を担っていることが示唆された。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

- 1) Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Mariko Murayama, Hiroyuki Omizu, Nobuaki Matsumori, Michio Murata, Tohru Oishi, Synthesis and Stereochemical Revision of the C31-C67 Fragment of Amphidinol 3, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2018**, 57, 6060-6064. 査読あり
DOI: 10.1002/anie.201712167
- 2) Makoto Ebine, Yuri Takada, Naoto Yanai, Tohru Oishi, Synthesis of a truncated analog of amphidinol 3 corresponding to the C21-C39/C52-C67 section, *Chem. Lett.* **2017**, 46, 662-664. 査読あり
DOI: 10.1246/cl.170050

[学会発表](計17件)

- 1) Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi, Synthetic Studies on Amphidinol 3, IRCCS-JST CREST Joint Symposium "Chemical sciences facing difficult challenges", Jan 2018.
- 2) Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi, Synthetic Studies on

Amphidinol 3, The 11th International Symposium on Integrated Synthesis & International Symposium on Middle Molecular Strategy, Nov 2017.

- 3) Makoto Ebine, Yuma Wakamiya, Tohru Oishi, Synthetic Studies on Amphidinol 3, 18th Tetrahedron Symposium Asia Edition, Jul 2017.
- 4) Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi, Synthetic Studies on Amphidinol 3, International Symposium on Pure & Applied Chemistry 2017 (ISPAC 2017), Jun 2017.
- 5) 若宮 佑真, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール 3 の絶対配置の確認, 日本化学会第 97 春季年会, Mar 2017.
- 6) Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi, Synthesis and Confirmation of the Absolute Configuration of the C31-C67 Section of Amphidinol 3, The 6th Junior International Conference on Cutting-Edge Organic Chemistry in Asia, Oct 2016.
- 7) 若宮 佑真, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール 3 の C31-C67 部分の合成と絶対配置の確認, 第 28 回若手研究者のためのセミナー, Aug 2016.
- 8) 高下 朋之, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール 3 の C39-C52 部分の合成研究, 第 53 回化学関連支部合同九州大会, Jul 2016.
- 9) 若宮 佑真, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール 3 の C31-C67 部分の合成と絶対配置の確認, 第 53 回化学関連支部合同九州大会, Jul 2016.
- 10) 若宮 佑真, 村山 真理子, 高田 悠里, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール 3 の C31-C67 部分の合成研究, 第 106 回有機合成シンポジウム, Jun 2016.
- 11) 若宮 佑真, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール 3 の C31-C67 部分の合成研究, 日本化学会第 96 春季年会, Mar 2016.
- 12) Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi, Synthetic Study of the C31-C67 Part of Amphidinol 3, The 5th international conference on MEXT project of integrated research on chemical synthesis, Jan 2016.

- 13) Yuma Wakamiya, Makoto Ebine, Tohru Oishi, Synthetic Study of the C31-C67 Part of Amphidinol 3, Pacificchem2015, Dec 2015.
- 14) Yuri Takada, Makoto Ebine, Tohru Oishi, Development of Molecular Probes Based on the Partial Structure of Amphidinol 3, Pacificchem2015, Dec 2015.
- 15) 若宮 佑真, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール3の C31-C52 部分の合成研究, 第 27 回若手研究者のためのセミナー, Aug 2015.
- 16) 若宮 佑真, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール3の C31-C42 部分の合成研究, 第 52 回化学関連支部合同九州大会・日本化学会九州支部設立 100 周年記念国際シンポジウム, Jun 2015.
- 17) 高田 悠里, 海老根 真琴, 大石 徹, アンフィジノール3の部分構造を用いた分子プローブの開発, 第 52 回化学関連支部合同九州大会・日本化学会九州支部設立 100 周年記念国際シンポジウム, Jun 2015.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 出願年月日：
 国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：
 発明者：
 権利者：
 種類：
 番号：
 取得年月日：
 国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等
<http://www.scc.kyushu-u.ac.jp/Seibutsuyuki/index.htm>

6 . 研究組織

(1)研究代表者
 海老根 真琴 (EBINE, Makoto)
 九州大学・大学院理学研究院・助教
 研究者番号：70545574

(2)研究分担者
 ()

研究者番号：

(3)連携研究者
 ()

研究者番号：

(4)研究協力者
 ()