

令和 4 年 3 月 30 日現在

機関番号：11301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2016～2018

課題番号：16K13082

研究課題名(和文) 海洋ポリケチド天然物を基盤とした細胞増殖促進分子の創製と機能解明

研究課題名(英文) Synthesis and bio-functional analysis of marine polyketide natural product with potent cell proliferation-promoting activity.

研究代表者

佐々木 誠 (Sasaki, Makoto)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：80235267

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：マウス骨髄由来間葉系幹細胞および骨芽細胞の増殖を極低濃度で促進する海洋ポリケチド天然物、アンフィリオニン-5の全合成と立体配置の決定に取り組んだ。分子左半分に相当するC1-C12部分に関して、当該部分に相当する部分構造として可能な複数の立体異性体を立体発散的に合成し、それらのNMRデータを天然物の当該部分と詳細に比較することにより、その相対配置を決定した。同様に、分子右端部C17-C28部分に相当する2種の立体異性体を設計・合成し、天然物とNMRデータを比較することにより、C23/C26の相対配置の帰属を試みた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

アンフィリオニン-5は、マウス骨髄由来間葉系幹細胞及び骨芽細胞の増殖を促進する生物機能を持つこれまでに前例のない海洋ポリケチド天然物である。アンフィリオニン-5の構造を基盤とした新規細胞増殖促進分子の創製・機能解明のためには立体化学に関する情報は不可欠である。本研究では、適切に設計した部分構造の合成と天然物とのNMRデータの比較によるC9/C12及びC23/C26位の相対配置を決定し、「不斉中心の立体配置の違いが、2つのメチレン鎖を介した炭素のNMR化学シフト値にもわずかではあるが明瞭に影響を及ぼす」ことを実証した。

研究成果の概要(英文)：Amphirionin-5, a marine polyketide natural product, exhibits potent cell proliferation-promoting activity on murine bone marrow stromal cells and murine osteoblastic cells at nanomolar concentrations. Our efforts towards the total synthesis and complete configurational assignment of amphirionin-5 to clarify its biological activity were conducted. The relative configuration of the C1-C12 portion of amphirionin-5 was established by the stereodivergent synthesis of six diastereomeric model compounds and comparison of their NMR spectroscopic data with those reported for the natural product. This study led to the elucidation of the relative configuration between C4/C5 and C9/C12 and to the reassignment of the proposed configuration of the C9 position of amphirionin-5. Assignment of the unexplored relative configuration of C23/C26 was also attempted through a similar complementary use of organic synthesis and NMR analysis.

研究分野：天然物合成化学、有機化学

キーワード：アンフィリオニン-5 細胞増殖促進活性 全合成 立体配置決定 機能解析

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋生物から新たな作用機序で強力な生物活性を示す天然有機化合物(天然物)が数多く見出されており、新たな医薬品開発やケミカルバイオロジー研究の鍵化合物として多くの注目を集めている。しかし、多くの場合に自然界から極微量しか試料調達できないため、詳細な生物活性評価や作用機序解析の大きな障害となっている。また、生物活性天然物の立体配置は、生物活性の本質の解明に必要な不可欠な構造情報であるが、複雑な構造のために最新の NMR 解析のみで立体配置を決定することが困難な場合も増えている。これらの問題を解決するために、有機合成による化合物供給や立体配置決定の果たす役割は極めて重要である。

アンフィリオニン-5 (1) は海洋渦鞭毛藻から単離された新規ポリケチド天然物である。本天然物は、マウス骨髄由来間葉系幹細胞及び骨芽細胞の増殖をナノモル濃度で顕著に促進する一方で、細胞の形態変化や分化誘導を引き起こさず、高濃度でも細胞毒性を示さない。したがって、再生医療のための細胞増殖試薬や骨粗鬆症治療薬リード化合物としての大きな可能性を秘めている。その平面構造と一部の相対配置は詳細な 2 次元 NMR 解析により決定されていたが、自由度の高い鎖状部に孤立して存在する C12, C26 位の立体配置と分子全体の絶対配置は未決定であった。このために、重要な生物活性を有するにも関わらず、その合成研究はまったく手付かずの状態にあった。研究代表者はこれまでに、合成化学的アプローチによりアンフィリオニン-5 の C4/C5 位の相対配置を決定し、提出された C9 位の立体配置に誤りがあることを明らかにしてきた。

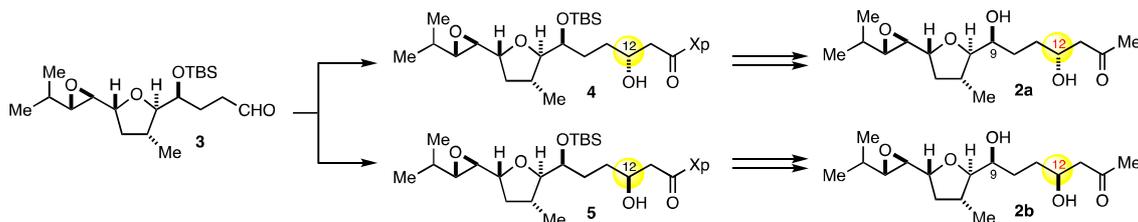


2. 研究の目的

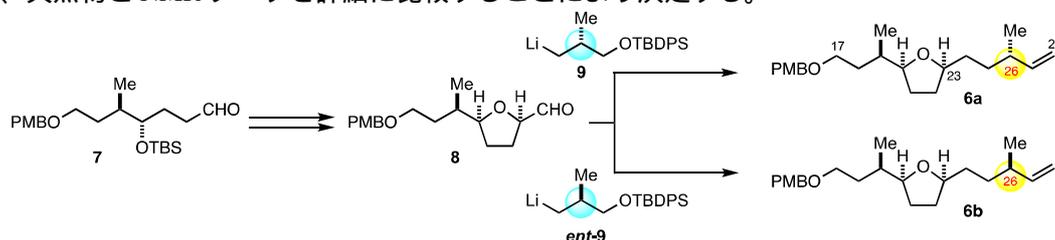
顕著な細胞増殖促進活性を示すアンフィリオニン-5 の全立体配置を合成化学的アプローチに基づいて決定するとともに、効率的な全合成法を確立することを目的とした。さらに、活性を保持した構造単純化類縁体を合成し、それをを用いた標的タンパク質の同定、新たな細胞増殖促進分子の創製と機能解明へと研究展開することを目指した。

3. 研究の方法

(1) C12 位の立体配置決定: 既にアンフィリオニン-5 の C1-C9 部分の相対配置を 1 に示すように決定している。そこで次に、C1-C15 部分に相当するモデル化合物として可能な 2 種の立体異性体 2a, 2b を合成し、その NMR データを天然物のものと詳細に比較することにより C12 位の立体配置を決定することとした。C12 位不斉中心の導入は、共通の合成中間体 3 に対するアセテートアルドール反応により行い、2 種の立体異性体 4, 5 を作り分ける。さらに 2a, 2b へと誘導し、C9-C12 位部分について ^1H 及び ^{13}C NMR 化学シフト値を天然物のデータと比較することにより C9/C12 の相対配置を決定する。C9, C12 位不斉中心からメチレンを挟んだ C10, C11 の NMR 化学シフト値には僅かではあるが明確な差が現れるはずであり、従来の「2 つのメチレンを挟んで結合した不斉中心の立体化学の違いは NMR では無視できる」と言う定説を覆す。

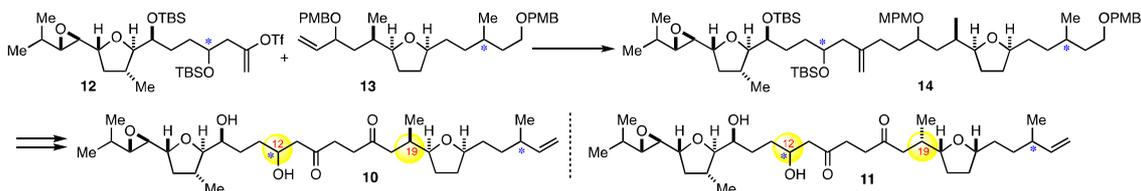


(2) C26 位の立体配置決定: C23/C26 位の相対配置についても同様の有機合成化学的アプローチにより、C17-C28 部分に相当するモデル化合物として可能な 2 種の異性体 6a, 6b を設計・合成し、天然物と NMR データを詳細に比較することにより決定する。



(3) アンフィリオニン-5 の全合成と全立体配置の決定: 上記のようにして C12, C26 位の立体配置を決定することにより候補化合物となる立体異性体の数を 2 つ (10, 11) に絞り込むことができる。まず、3 から合成した化合物 12 と、予め C26 位不斉中心を含み、しかも両鏡像体が入手可能なシトロネロールから合成した化合物 13 を鈴木-宮浦反応により連結して 14 を合成する。さらに、1,4-ジケトン部分の構築と末端二重結合の導入を経て化合物 10 を合成する。同様に、12 と *ent*-13 から化合物 11 を合成する。2 種の立体異性体 10, 11 の 2 つの C12/C19 位不斉中心

は超遠隔位にあるため、通常の NMR 解析による識別は不可能であると予想される。そこで、ランタニドシフト試薬、キラル溶媒和試薬、キラル溶媒を利用した NMR シグナルの識別、あるいはキラル HPLC 分析による識別を検討する。これにより、アンフィリオニン-5 の全立体配置の決定を行う。また、比旋光度の比較、天然物の再単離と新 Mosher 法の適用により絶対配置を決定する。

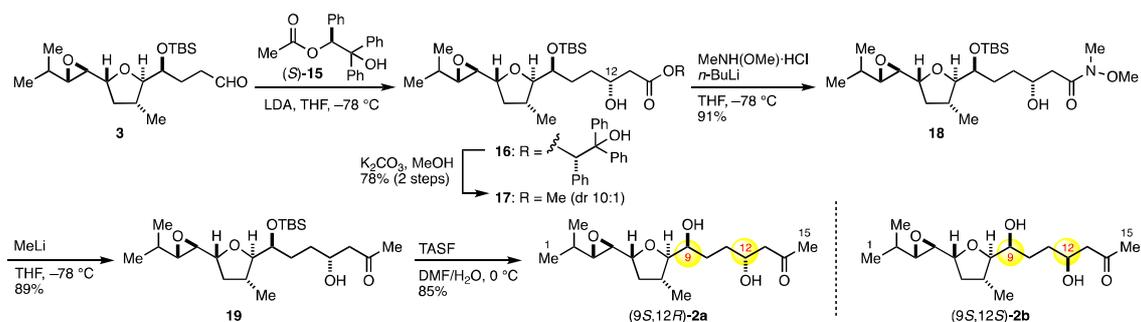


(4)構造類縁体の合成と構造活性相関、機能解明：ごく最近単離された類似の天然物アンフィリオニン-4 が同様の生物活性を有することから、両者に共通した構造的特徴であるテトラヒドロフラン環部位が細胞増殖促進活性に重要であることが予想される。そこで、細胞膜透過性を考慮した構造単純化類縁体を設計・合成し、細胞増殖促進活性を評価する。得られた結果をさらにフィードバックし、活性を保持した構造単純化類縁体を開発する。さらに、合成したアンフィリオニン-5 及び構造単純化活性類縁体を固定化したアフィニティービーズの調製、光親和性標識プローブの設計・合成を行い、標的生体分子の同定を目指す。

4. 研究成果

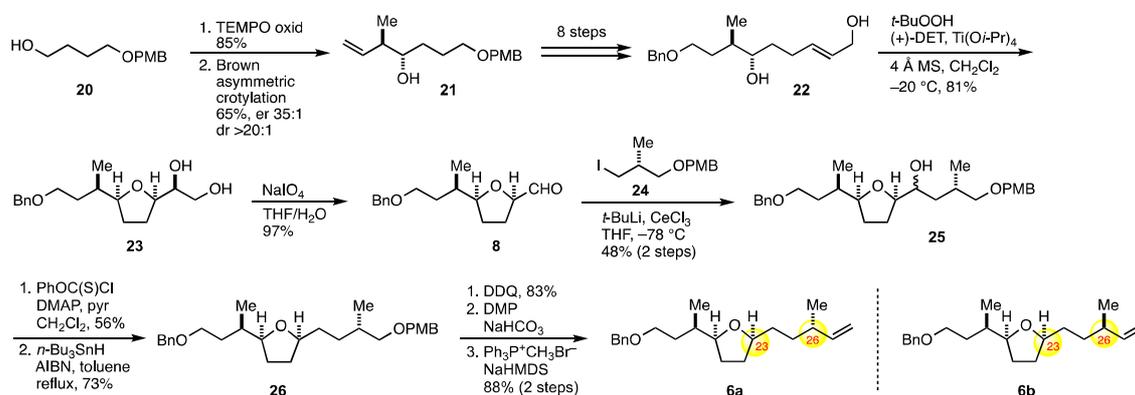
(1)アルデヒド **3** に対して Braun らの HYTRA エステル(S)-15 から調製したリチウムエノラートを用いたジアステレオ選択的アセテートアルドール反応を行い、 β -ヒドロキシエステル **16** を得た後、メタノリシスによりメチルエステル **17** を立体選択的に得た。次に、Weinreb アミド **18** へと変換し、MeLi 処理によりメチルケトン **19** とした。最後に、脱シリル化を行うことにより(9*S*,12*R*)-**2a** を合成した。同様にして、化合物 **3** から(*R*)-15 を用いたアルドール反応を経て、(9*S*,12*S*)-**2b** を合成した。

合成した化合物 **2a**, **2b** の NMR データを天然物と詳細に比較したところ、**2a** の C1-C12 部分の NMR データは天然物と非常に良い一致を示したのに対して、**2b** では C11 位水素と C12 位炭素の NMR 化学シフト値には、わずかではあるものの明確な違いが認められた。この結果から、化合物 **2a** が天然物と同一の相対配置を有すると結論づけた。



(2)アルコール **20** を酸化して得られるアルデヒドに対して Brown 不斉クロチル化を行い、高エナンチオかつジアステレオ選択的にホモアリルアルコール **21** を得た。さらに 8 工程の反応を経て誘導したアリルアルコール **22** に Sharpless 不斉エポキシ化を行ったところ、エポキシ化と 5-exo 環化が連続的に進行してテトラヒドロフラン **23** が高収率で得られた。次に、ジオール部分を酸化開裂してアルデヒド **8** へと誘導した。(R)-(-)-3-ヒドロキシイソ酪酸メチルから誘導したヨウ素体 **24** を有機セリウム試薬へと変換し、アルデヒド **8** と反応させてアルコール **25** をジアステレオマー混合物として得た。さらに、フェニルチオカーボネートに変換後、Barton-McCombie 脱酸素化を行って化合物 **26** へと誘導した。PMB 基を酸化的に除去した後、生じたアルコールの Dess-Martin 酸化と続く Wittig 反応により化合物 **6a** を合成した。また、化合物 **8** と **24** の鏡像体 (*ent*-**24**) から同様の手法に従って、化合物 **6b** を合成した。

こうして合成した化合物 **6a**, **6b** の NMR データを天然物のそれらと詳細に比較した。化合物 **6a**, **6b** の C23-C28 部分における ^1H NMR 化学シフト値にほとんど差は見られず、いずれも天然物のデータと良い一致を示した。 ^{13}C NMR データについても、化合物 **6a**, **6b** 間で C23-C28 部分の化学シフト値に顕著な差は見られず、いずれも天然物と良い一致を示していたが、化合物 **6a** の C24 位化学シフト値のみが天然物のデータとわずかに異なり、0.4 ppm の差が観測された。この結果から、天然物の C23/C26 の相対配置は、化合物 **6b** と同一である可能性が示唆された。しかし、化学シフト値の差が小さいこと、また両者の NMR データが非常に類似していることから、さらなる検証が必要と考えられる。



5 . 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 1 2 件)

Keisuke Sakurai, Makoto Sasaki, Haruhiko Fuwa, Total synthesis of enigmazole A, *Angewandte Chemie International Edition*, 査読有, 57, 2018, 5143-5146

DOI: 10.1002/anie.201801561

Makoto Sasaki, Kotaro Iwasaki, Keisuke Arai, Studies towards the total synthesis of Caribbean ciguatoxin C-CTX-1: Synthesis of the LMN-ring fragment through reductive olefin cross-coupling, *Organic Letters*, 査読有, 20, 2018, 7163-7166

DOI: 10.1021/acs.orglett.8b03102

Kotaro Iwasaki, Satori Sasaki, Yusuke Kasai, Yuki Kawashima, Shohei Sasaki, Takanori Ito, Mari Yotsu-Yamashita, Makoto Sasaki, Total synthesis of polycavernosides A and B, two lethal toxins from red alga, *The Journal of Organic Chemistry*, 査読有, 82, 2017, 13204-13219.

DOI: 10.1021/acs.joc.7b02293

Eva Alonso, Andres C. Vieira, Ines Roderiguez, Rebeca Alvarino, Sandra Gegunde, Haruhiko Fuwa, Yuto Suga, Makoto Sasaki, Amparo Alfonso, Jose Manuel Cifuentes, Luis M. Botana, Tetracyclic truncated analogue of the marine toxin gambierol modifies NMDA, tau, and amyloid β expression in mice brains: Implications in AD pathology, *ACS Chemical Neuroscience*, 査読有, 8, 2017, 1358-1367.

DOI: 10.1021/acschemneuro.7b00012.

Haruhiko Fuwa, Makoto Sasaki, Exploiting ruthenium-catalyzed metathetic and non-metathetic reactions in total synthesis of marine oxacyclic natural products, *Bulletin Chemical Society of Japan*, 査読有, 89, 2016, 1403-1415.

DOI: 10.1246/bcsj.20160224.

Moemi Kanto, Sota Sato, Masashi Tsuda, Makoto Sasaki, Stereodivergent synthesis and configurational assignment of the C1-C15 segment of amphirionin-5, *The Journal of Organic Chemistry*, 査読有, 81, 2016, 9105-9121.

DOI: 10.1021/acs.joc.6b01700.

Yu Onodera, Kazuaki Hirota, Yuto Suga, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita, Makoto Sasaki, Diastereoselective ring-closing metathesis as a means to construct medium-sized cyclic ethers: Application to the synthesis of a photoactivatable gambierol derivative, *The Journal of Organic Chemistry*, 査読有, 81, 2016, 8234-8252.

DOI: 10.1021/as.joc.6b01302

Atsushi Toyoshima, Makoto Sasaki, Toward the total synthesis of sphidinolide N: Convergent synthesis of the C1-C13 segment, *Tetrahedron Letters*, 査読有, 57, 2016, 3532-3534.

DOI: 10.1016/j.tetlet.2016.06.107.

Sachie Furumochi, Tatsuya Onoda, Yuko Cho, Haruhiko Fuwa, Makoto Sasaki, Mari Yotsu-Yamashita, Keiichi Konoki, Effect of carbon chain length in acyl coenzyme A on the efficiency of enzymatic transformation of okadaic acid to 7-O-acyl okadaic acid, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 査読有, 26, 2016, 2992-2996.

DOI: 10.1016/j.bmcl.2016.05.027.

Yuki Kawashima, Atsushi Toyoshima, Haruhiko Fuwa, Makoto Sasaki, Toward the total synthesis of amphidinolide N: Synthesis of the C8-C29 fragment, *Organic Letters*, 査読有, 18, 2016, 2232-2235.

DOI: 10.1021/acs.orglett.6b00871.

Haruhiko Fuwa, Naoya Yamagata, Yuta Okuaki, Yuta Ogata, Asami Saito, Makoto Sasaki, Total synthesis of complete stereostructure of a marine macrolide glycoside, (-)-lyngbyaloside B, *Chemistry A European Journal*, 査読有, 22, 2016, 6815-6829.

DOI: 10.1002/chem.201600341

Begona Espina, Eva Cagide, M. Carmen Louzao, Natalia Vilarino, Merdedes R. Vieytes, Yoshiyuki Takeda, Makoto Sasaki, Luis M. Botana, Cytotoxicity of goniodomin A and B in non contractile cells, *Toxicology Letters*, 査読有, 250, 2016, 10-20.

DOI: 10.1016/j.toxlet.2016.04.001

〔学会発表〕(計16件)

櫻井敬祐、佐々木 誠、不破春彦、エニグマゾールAの全合成研究、日本化学会第98春季年会、2018

川島悠岐、三好太郎、岩崎浩太郎、不破春彦、佐々木 誠、ゴニオドミンAの全合成研究、日本化学会第98春季年会、2018

佐々木 誠、海洋生物由来の生物機能大環状天然中分子の高効率全合成、科研費・新学術領域研究「反応集積化が導く中分子戦略：高次生物機能分子の創製」第5回成果報告会、2018

川島悠岐、三好太郎、岩崎浩太郎、不破春彦、佐々木 誠、ゴニオドミンAの全合成研究、第112回有機合成シンポジウム、2017

川島悠岐、三好太郎、岩崎浩太郎、不破春彦、佐々木 誠、ゴニオドミンAの全合成研究、第59回天然有機化合物討論会、2017

川島悠岐、三好太郎、岩崎浩太郎、不破春彦、佐々木 誠、ゴニオドミンAの全合成研究、第28回万有仙台シンポジウム、2017

岩崎浩太郎、荒井啓介、佐々木 誠、カリビアンシガトキシンの合成研究-MN環部の立体選択的合成法の開発-、日本薬学会第137年会、2017

櫻井敬祐、佐々木 誠、不破春彦、エニグマゾールAの合成研究、日本化学会第97春季年会、2017

坂本溪太、佐々木 誠、不破春彦、イリオモテオリド-2aの合成および構造研究、日本化学会第97春季年会、2017

齋藤真輝、三好太郎、岩崎浩太郎、佐々木 誠、パルチミンの合成研究、日本化学会第97春季年会、2017

三好太郎、齋藤真輝、岩崎浩太郎、佐々木 誠、パルチミンの合成研究、日本化学会第97春季年会、2017

柳翔太、佐々木 誠、不破春彦、ネオペルトリドのAMCA標識アナログの合成と機能評価、日本化学会第97春季年会、2017

柳翔太、佐々木 誠、不破春彦、ネオペルトリドの蛍光標識体の合成と機能解析、2016

小野寺悠、佐々木 誠、不破春彦、ガンビエロールの光感応性類縁体の合成と機能評価、2016

坂本溪太、佐々木 誠、不破春彦、イリオモテオリド-2aの全合成研究、第63回トキシシンポジウム、2016

柳翔太、野口拓真、川上雅人、佐々木 誠、不破春彦、丹羽伸介、杉本亜砂子、ネオペルトリド蛍光標識アナログの設計・合成・機能評価、日本ケミカルバイオロジー学会第11回年会、2016

〔図書〕(計4件)

佐々木 誠、丸善出版、理科年表 2019、2018、17

不破春彦、佐々木 誠、化学同人、天然有機化合物の全合成 独創的なものづくりの反応と戦略、2017、145-151

佐々木 誠、丸善出版、理科年表 平成30年、2017、17

佐々木 誠、丸善出版、理科年表 平成29年、2016、17

〔産業財産権〕

出願状況(計0件)

取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/kanshoku/>

6. 研究組織

(1) 分担研究者

なし

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：津田 正史

ローマ字氏名：Tsuda Masashi

研究協力者氏名：此木 敬一
ローマ字氏名：Konoki Keiichi

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。