

令和元年6月13日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2018

課題番号：17K15264

研究課題名(和文) 骨芽細胞の分化・増殖に関わる微量天然物の全合成による大量供給と立体化学決定

研究課題名(英文) Total synthesis and stereochemical assignment of natural product related to osteoblast differentiation and proliferation

研究代表者

小倉 由資 (Ogura, Yusuke)

東北大学・農学研究科・助教

研究者番号：50750139

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：これまでに無いタイプの画期的な骨粗鬆症治療薬の開発に繋がると期待される天然由来成分が発見されたが、これらは天然からは極微量にしか得られないため、その物質の構造の一部が判明していなかった。そこでこれらの天然有機化合物の合成研究に取り組んだ結果、化合物全体を作り上げるために必要な各ブロックの調製まで行うことができた。目的の天然有機化合物の合成にはこれらのブロックを連結することが必要で、これから様々な検討を重ねて目的である骨粗鬆症治療薬の候補物質の合成を達成する予定である。

研究成果の学術的意義や社会的意義

超高齢化社会を迎えた我が国における、60代、70代女性の罹患率は推定35%、70%と高く治療法の確立は急務であるが、現在使用されるいずれの薬剤も決定打にはなり得ていない。本研究は骨を作る細胞の活性化と骨を破壊する細胞の抑制を狙った従来法とは異なり、骨芽細胞の増殖によって骨粗鬆症を改善するという新たな発想に基づくものである。現在まで、新しい骨粗鬆症薬の候補化合物(天然由来)の完成に必要なブロックの調製まで完了した。今後各ブロックを連結して候補化合物を合成できれば、実際にこの天然由来成分を使った細胞実験が展開される段階へと移れる。早期のうちにこの天然成分の合成を達成したい。

研究成果の概要(英文)：Although naturally-occurring components expected to lead to the development of an unprecedented type of revolutionary osteoporosis therapeutic agent have been discovered, these can be obtained only in extremely small amounts from nature. Therefore, the structure of the compounds were not clearly known. As a result of studying on the synthesis of these natural organic compounds, several block, necessary to make up the whole compound, could be prepared. The synthesis of the desired natural organic compounds requires linking these blocks, and we will continue various studies to achieve the synthesis of the desired candidate compounds for osteoporosis treatment.

研究分野：有機合成化学 天然物化学

キーワード：骨芽細胞 天然物合成 有機合成化学

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

骨粗鬆症は高齢者の骨の健康を脅かしている。健全な骨では骨芽細胞による骨形成と破骨細胞による骨破壊(骨吸収)の均衡が保たれているが、これが崩れて骨破壊が異常に高まると骨粗鬆症となり、骨強度の低下や骨痛が惹起される。本症の外的要因にはカルシウム不足による血中カルシウム濃度の低下や、カルシウム吸収を促進しつつ骨破壊を抑制するビタミン D の不足等が挙げられるが、特に閉経後の女性の場合、骨芽細胞を活性化し破骨細胞を抑制するエストロゲンの分泌量の低下が主因である。実際に 60 代、70 代女性の罹患率は推定 35%、70%と高く治療法の確立は急務であるが、現在使用されるいずれの薬剤も決定打にはなり得ていない。この様な状況下、骨粗鬆症治療の新局面を切り開く可能性を秘めた天然物の単離報告がなされている。すなわち近年新たに発見された天然物の中には、骨芽細胞に分化可能なマウス骨髄間質細胞 ST2 と、マウス骨芽細胞 MC3T3-E1 を強力に増殖促進するものがある。そしてこれらの天然物は細胞毒性を示さない。また、間葉系幹細胞 C3H10T1/2 に対して骨芽細胞への分化を促す転写因子(Runx2, Osterix)を発現誘導する天然物も新たに報告されている。これらの知見から筆者は、これらの骨芽細胞の分化・誘導に関連する天然物を用いて骨芽細胞を増殖させることにより骨形成と骨破壊の不均衡を是正できれば、骨粗鬆症の新規治療法の開拓に繋がるのではないかとこの着想に至った。

### 2. 研究の目的

骨芽細胞増殖促進活性を有する天然物 と、骨芽細胞分化誘導活性を有するもう一つの天然物の立体化学決定と量的供給ルートの確立を実現することによって、両物質を用いた新規骨粗鬆症治療法の開発に向けた基礎・応用研究の基盤創成を目的とする。骨芽細胞の活性化と破骨細胞の不活性化を標的とした従来法とは異なり、骨芽細胞の大幅な増殖によって骨粗鬆症における骨形成と骨破壊の不均衡を改善するという新たな発想に基づくものである。

### 3. 研究の方法

立体化学が決定されていない骨芽細胞増殖活性物質 については、その構造が比較的大きいことから、始めに上部と下部に相当する 2 つのモデル化合物(A, B)を用いて両部位の相対立体配置を決定することとした。上部モデル A のジアステレオマーはこれまでの報告から理論上 4 種が可能であるが、それらを個別に合成するには多大な労力が必要であるため、筆者は A を共通中間体として、これに対する平易な変換により 4 種全てのジアステレオマーを迅速に取得できる立体増殖法を立案した。これにより 4 種全ジステレオマーを簡便・確実に調製できる。下部モデル B のジアステレオマー 2 種(26 位の不斉に基づく)は文献既知化合物の両鏡像体から変換して得ることとした。次に調製した A 及び B の各種ジアステレオマーと天然物との NMR 比較により上下両部位の相対立体配置を決定する。続いて決定した相対立体配置に基づいて実際の上下ブロック(A', ent-A', B', ent-B')を調製・連結し、各種連結体と天然物との NMR 及び比旋光度の比較により、骨芽細胞増殖物質 の絶対立体配置を決定すると共に全合成を達成する。なお多数の水酸基関連不斉点を持つ天然物の立体化学を立体増殖という概念で迅速かつ確実に決定する方法は、筆者が属するグループで一般化を試みている方法論であり、この場合にも適用すれば種々のジアステレオマーの取得が用意になると考えた。

骨芽細胞分化誘導剤 の量的供給ルートは、後の応用研究を見据えた収束的なものとした。即ち 2 つのブロック D, E に分けて考え、それらを個別に調製後、合成の終盤に連結して全合成を完成させる戦略である。比較的小さなブロックである D, E の構造改変は容易であるため、この方法論に従えば、D と E の様々な構造改変体を組み合わせることで、多様性に富む骨芽細胞分化誘導剤 の類縁体ライブラリーの構築が可能となる。D は(R)-carvone の  $\gamma$  位の酸化とスズ置換基の導入により得ることとし、E はケトン  $\alpha$  位へのイソプロペニル基導入等を経て得ることとした。

### 4. 研究成果

骨芽細胞増殖活性天然物の合成研究においては、まず安価に入手可能なバニリンを出発原料として、炭素鎖伸長反応や不斉ジヒドロキシ反応を含む数工程の変換によって光学活性なエポキシベンジルアルコール化合物へと導きブロック A の左側部分の大量合成法の確立を完了した。続いて桂皮酸から誘導できる右側ブロックを別途調整し、そのフェノール部位と左側部分との間で光延反応によるエーテル化を行った。用いる試薬や溶媒の種類、反応温度や試薬類の当量等それぞれにおいて検討を重ねた結果、最適な反応条件を見出し、高いジアステレオ選択性でエーテル化体を得ることに成功した。現在は分子内環化反応を用いた炭素-炭素結合形成反応によって、目的 A を構築する検討を継続中であるが、極微量の環化体を得るにとどまっております。

また B については、安価かつ大量に入手可能な化合物を出発原料に、汎用性の高い光学活性ラクトンへと 6 工程で導いた。さらに、この 6 工程の最適化を検討し、数十グラムスケールでも大量供給可能な手法を確立した。次にラクトンの半還元で生じるラクツールに対し、ペストマン試薬を用いてアルキン合成を行い、炭素鎖を伸長させた。今後はそのアルキンを足がかりにさらなる炭素鎖の伸長を行い、近いうちに B の合成を達成できる予定である。

骨芽細胞分化誘導剤 の合成研究においては、まず文献既知化合物をより簡便かつ大量に調

整する必要があったため、その改良合成に取り組むこととし、最初に出発原料であるカルボンから誘導して官能基の保護を施した基質に対して、直接的な酸素官能基の導入やラジカル反応によるハロゲン化を試み、多種多様な反応条件を検討した結果、所望の位置を官能基化する条件を見出した。そして更に、溶媒や試薬量、温度や濃度など各パラメーターについて最適化を続けた結果、所望の化合物をこれまでの報告より大幅に効率よく大量合成できる条件を確立した。現在、これを元に骨芽細胞分化誘導剤の合成を進めている。

## 5. 主な発表論文等

### 〔雑誌論文〕(計5件)

1. Hiroki Soeda, Ryo Towada, Yusuke Ogura, Tomoyo Mohri, Georg Pohnert, Shigefumi Kuwahara  
「Synthetic study of a moss-produced oxylipin and its structural revision.」  
Tetrahedron (査読あり) 2019年 75巻 1555-1562  
DOI: 10.1016/j.tet.2019.02.012
2. Tetsuro Murokawa, Masaru Enomoto., Takaaki Teranishi, Yusuke Ogura, Shigefumi Kuwahara  
「Total Synthesis of JBIR-03 and asporyzin C」  
Tetrahedron Letters (査読あり) 2018年 59巻 4107-4109  
DOI: 10.1016/j.tetlet.2018.10.009
3. Yusuke Ogura, Shoko Okada, Naoki Mori, Ken Ishigami, and Hidenori Watanabe  
「Enantioselective Total Synthesis of (+)-Anthecularin」  
Organic Letters (査読あり) 2018年 20巻 3888-3891  
DOI: 10.1021/acs.orglett.8b01467
4. Yuki Fukuda, Shuntaro Sato, Yusuke Ogura, Shigefumi Kuwahara  
「Two approaches to 14,15-secoergostane intermediates for the synthesis of strophasterols」  
Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry (査読あり) 2018年 82巻 986-992  
DOI: 10.1080/09168451.2018.1452603
5. Shuntaro Sato, Yuki Fukuda, Yusuke Ogura, Eunsang, Kwon, Shigefumi Kuwahara  
「Synthesis of the Epimeric Secosteroids Strophasterols A and B」  
Angewandte Chemie International Edition (査読あり) 2017年 56巻 10911-10914  
DOI: 10.1002/anie.201706086

### 〔学会発表〕(計10件)

1. 小宅真理、佐藤俊太郎、小倉由資、桑原重文「(-)-sinensilactam Aの全合成研究」  
日本農芸化学会 2019年度大会 東京 2019年3月26日
2. 毛利朋世、高橋祐介、権根相、桑原重文、小倉由資「(-)-Isocolorbicol および関連天然物の高立体選択的合成研究」  
日本農芸化学会 2019年度大会 東京 2019年3月26日
3. 毛利朋世、高橋祐介、権根相、桑原重文、小倉由資「(-)-Isocolorbicolの不斉全合成」  
第62回香料・テルペン及び精油化学に関する討論会 長崎 2018年10月14日
4. 毛利朋世、高橋祐介、権根相、桑原重文、小倉由資「ジヒドロ-β-アガロフラン骨格の効率的な構築に基づく(-)-Isocolorbicolの不斉全合成」  
第60回天然有機化合物討論会 久留米 2018年9月26日
5. 毛利朋世、高橋祐介、桑原重文、小倉由資「(-)-isocolorbicolの高立体選択的全合成」  
第29回万有仙台シンポジウム 仙台 2018年6月9日
6. 佐藤俊太郎、福田裕紀、小倉由資、桑原重文「Strophasterol C, D及びgraucoposterol Aの合成研究」  
日本農芸化学会 2018年度大会 名古屋 2018年3月17日
7. 小倉由資、佐藤俊太郎、福田裕紀、毛利朋世、桑原重文「顕著な生物活性を有するテルペン類の全合成研究」  
Asian Chemical Probe Research Hub Symposium 仙台 2018年2月13日
8. 佐藤俊太郎、福田裕紀、小倉由資、桑原重文「Strophasterol A及びBの全合成」

第 28 回万有仙台シンポジウム 仙台市 2017 年 6 月 24 日

9. 佐藤俊太郎、福田裕紀、小倉由資、権塚相、桑原重文「転位型エルゴスタン骨格を有する Strophasterol A 及び B の合成」  
第 59 回天然有機化合物討論会 札幌 2017 年 9 月 21 日
10. 佐藤俊太郎、福田裕紀、小倉由資、権塚相、桑原重文「転位型エルゴスタン骨格を有する strophasterol A 及び B の合成研究」  
第 61 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会 金沢 2017 年 9 月 10 日

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究分担者

なし

(2) 連携研究者

なし

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。