

令和 5 年 6 月 19 日現在

機関番号：22701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K15706

研究課題名(和文) 化学反応を駆使した多官能基性天然物の構造と作用機序研究

研究課題名(英文) Studies on structurally complex natural products using chemical reactions

研究代表者

入江 楽 (Irie, Raku)

横浜市立大学・理学部・助教

研究者番号：50835238

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)：海綿動物から見出された天然有機化合物であるポエシラストリン類は、骨粗鬆症やがんの増殖・転移に関連している膜タンパク質V-ATPアーゼの強力な阻害剤であり、分子ツールや医薬品などへの応用が期待されている。しかしながら天然からは微量しか得られず、また分子内に多くの官能基を有する複雑な化学構造のため、完全な構造決定がなされていなかった。本研究代表者はポエシラストリン類の特徴的な部分構造に着目した化学反応を用いて、分子サイズの大きな化合物を構造解析のしやすいフラグメントに分解することに成功した。また立体配置が未決定の不斉炭素のうち大部分を帰属した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究ではポエシラストリンの応用研究への第一歩である構造決定に大きく近づくことができた。また今回着目した化学構造は他の有用化合物にも見られるため、本研究で見出した反応は同様の構造解析を志向した化学分解や構造活性相関研究にあたり有効な手法となりうる。

研究成果の概要(英文)：Poecillastrins, isolated from marine sponges, are potent inhibitors of a V-ATPase, a membrane protein involved in osteoporosis and cancer growth and metastasis. However, the chemical structure of poecillastrins has not been fully elucidated, which has hindered the application of them in molecular tools and pharmaceuticals. In this study, the large and structurally complex natural products, poecillastrins, were successfully degraded into smaller fragments for structural analysis.

研究分野：天然物化学

キーワード：海洋天然物 構造解析 分解反応 アミド結合

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

海洋生物には、独自の化学構造と多様な生物活性を有する二次代謝産物(天然物)が豊富に含まれる。クロイソカイメンから単離された微小管ダイナミクス阻害剤ハリコンドリル B が医薬品に応用されるなど、有用化合物の探索源として利用されてきた。海洋天然物に関する研究は、①化学構造が複雑であるものが多い、②試料が稀少である、などを課題として抱えていたが、近年の分析技術の進歩によって以前は構造決定まで到達できなかった化合物を研究対象にすることが可能になりつつある。

ポエシラストリン類は、このような経緯により構造未決定で残された有用海洋天然物である。2000年に米国国立がん研究所(NCI)によってグランドバハマ島沖のカイメンから発見されたポエシラストリン類は、液胞型 H^+ -ATPase (V-ATPase) を阻害することによって強力な細胞毒性を示す。V-ATPase は真核生物の生体膜に広く存在する膜タンパク質で、プロトンの能動輸送によって膜内を酸性に保つ働きがある。V-ATPase は破骨細胞やがん細胞にも存在し、骨粗鬆症やがんの増殖・転移への関与が明らかになっているが詳細な機構は未解明で、ポエシラストリン類のような阻害剤は分子ツールや創薬シードとして有用である。しかしながら、深海に生息するカイメンの微量成分であることと複雑な化学構造ゆえに平面構造のみの報告にとどまっていた(文献1, 2)。

2. 研究の目的

申請者は培養細胞アッセイを用いた化合物探索により、奄美大島沖で採取されたカイメン *Pocillostra* sp. の抽出液からポエシラストリン類を再発見し、主成分ポエシラストリン C (図1) について最低限の量的課題(数 mg) を解決することができたため、化学反応を駆使して立体化学を含む完全な構造決定を行うこととした。またその過程で、構造活性相関および活性発現に必要な部分構造を明らかにし、ポエシラストリン類のプローブ化、さらには V-ATPase に対する作用部位特定への足がかりとしたいと考えた。

3. 研究の方法

ポエシラストリン類のように分子サイズが大きく、鎖状構造を有する天然物の立体化学の決定は、NMR スペクトル解析のみからは依然として困難である。このような場合、基本骨格を化学的に分解して、不斉炭素原子の数を減らした小さなフラグメントへと導いたうえで構造解析する方針がしばしば採用される。本研究では、ポエシラストリン C の不斉炭素原子のうち、立体配置未決定の部分がアミド結合を近傍に含んでいることに着目した。特に側鎖はアミド結合を介してマクロ環部分と連結しており、ここでの切断が効果的と考えられた。

またポエシラストリン C は分子内に3つのアミド結合を有するが、これらはいずれも水酸基と隣接している(図1)。通常、比較的安定な結合とされるアミドの加水分解には強条件が必要であり、多くの官能基を有するポエシラストリンのような天然物に対しては、望まぬ副反応が避けられない。ただしアミドの隣に水酸基が存在する(N-アシル-β-アミノアルコール)場合は、これを足掛かりにアミド結合の安定性を崩し、加水分解を受けやすくなるような誘導体化を施す

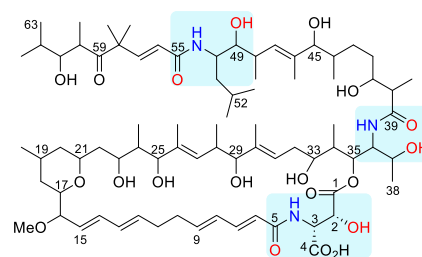


図1 ポエシラストリン C の構造

ことが可能と考えた。具体的には、アミドと隣接する水酸基の間で環形成させたのちに、環外のアミドを穏和な条件で切断する（図 2）。得られるフラグメントは配座が固定されているため、その相対配置の決定を直接行うことができるというメリットもある。

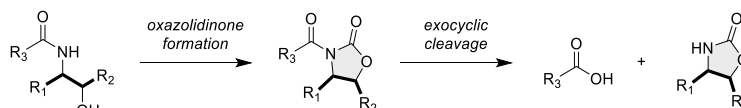


図 2 *N*-アシル-β-アミノアルコールの分解反応計画

4. 研究成果

まず *N*-アシル-β-アミノアルコールを部分構造に含むシンプルなモデル化合物 **1-4**（図 3）を設計・化学合成した。これを用いてアミド結合の開裂（脱アシル化）の条件検討をおこない、天然物の分解反応への適用を目指した。モデル化合物 4 種それぞれについて、イミダゾール-1-カルボキシレートへと変換したのちに塩基を室温で作用させたところ、環化と脱アシル化が連続して起こり、オキサゾリジノンが生成した。同条件にて低温で反応をおこなうと環化のみが起こった *N*-アシルオキサゾリジノンを与え、反応温度によって生成物のコントロールが可能であることがわかった。*N*-アシルオキサゾリジノンについてはそれぞれ、過酸化リチウムを作用させる定法で望み通り脱アシル化されることを確認した。

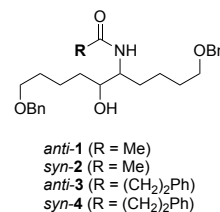


図 3 モデル化合物

次に天然物（ポエシラストリン C）の分解反応を試みた。天然物は稀少なため、反応は nmol スケールで実施し、反応追跡は LC-MS でおこなった。必要に応じて適宜モデル化合物に立ち戻り、試薬の量や後処理の方法を変更するなど条件を調整することで、天然物の側鎖がマクロ環から切り離されたフラグメントを得ることに成功した。

研究期間内のコロナ禍によりカイメンの採集活動が実施できなかったことから天然物の供給が滞り、当初計画していたフラグメントの NMR による構造解析、およびさらなる誘導体化を目的とした反応のスケールアップが困難であった。そこで立体配置が確定した化学合成品を調製し、キラルカラムを用いた LC-MS における天然物との保持時間の比較によって構造決定をおこなう方針を立て、分析を続けている。ポエシラストリン C のマクロ環部分については、天然物の 2 次元 NMR スペクトルから得られた情報に加えて、別途分解反応および化学合成品との比較をおこなうことでその帰属に成功しており、今後その成果報告も予定している。

（文献 1）K. Takada, B. W. Choi, M. A. Rashid, W. R. Gamble, J. H. Cardellina, II, Q. N. Van, J. R. Lloyd, J. B. McMahon and K. R. Gustafson, *J. Nat. Prod.* **2007**, *70*, 428-431.

（文献 2）R. Irie, K. Takada, Y. Ise, S. Ohtsuka, S. Okada, K. R. Gustafson and S. Matsunaga, *Org. Lett.* **2017**, *19*, 5395-5397.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Raku Irie, Sara Takaki, Ryoya Wakabayashi, Chisato Tani, Hitoshi Ouchi, Makoto Inai, Toshiyuki Kan, Masato Oikawa
2. 発表標題 Synthetic studies on aculeines, peptide toxins post-translationally modified by long-chain polyamines
3. 学会等名 International Congress on Pure & Applied Chemistry Kota Kinabalu 2022 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 入江 樂
2. 発表標題 天然物の構造解析から学んだ有機合成
3. 学会等名 有機合成化学協会関東支部 2021年度若手研究者のためのセミナー (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Raku Irie, Yuki Hitora, Ryuichi Watanabe, Shinji Sekiya, Yu Suyama, Hugh Clark, Toshiyuki Suzuki, Kentaro Takada, Seijiro Hosokawa, Masato Oikawa, Shigeki Matsunaga
2. 発表標題 Stereochemical analysis of poecillastrin C, a cytotoxic macrolide lactam from marine sponges
3. 学会等名 The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 入江 樂, 及川 雅人
2. 発表標題 イミダゾールの化学を利用したN-アシル- α -アミノアルコール選択的な脱アシル化反応
3. 学会等名 日本化学会第100春季年会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
--	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------