

令和 6 年 6 月 17 日現在

機関番号：34306

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05290

研究課題名(和文)天然物コネクティッド型分子の一斉合成と未開拓天然有機分子の能動的発掘

研究課題名(英文) Simultaneous synthesis of natural product hybrids and discovery of unexplored natural products

研究代表者

友原 啓介 (TOMOHARA, Keisuke)

京都薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：40711677

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)：天然物抽出物は、構造的複雑性と多様性、およびユニークな生物活性を持つ天然有機分子の宝庫である。天然物抽出物のケミカルエンジニアリングは、天然物由来の天然物様分子を簡便かつ一挙に合成する手法として注目されている。本研究では、天然物抽出物の混合物を基質としたUgi反応を実施し、起源の異なる複数の天然有機分子が反応して同一分子に結合した天然物コネクティッド型分子群の新規合成法を開発した。さらに、いくつかの化合物が、プロテアーゼ阻害活性あるいはPANC-1膵臓がん細胞に対する細胞毒性を示すことを明らかとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

夾雑系の天然物抽出物を天然物誘導体合成のための反応場として利用することは、操作および結果の煩雑さゆえに本質的に難しいと考えるのが常識であった。本研究では、反応の基質となる天然物抽出物をシステムチックに選定し、また反応系および精製方法を精密に設計・最適化することにより、天然物抽出物中の標的分子群のみを化学選択的に反応させて、新規の天然物コネクティッド型分子群を一挙に合成し簡便に単離することに初めて成功した。夾雑系の天然物抽出物が天然物誘導体合成のための反応場として利用可能であることを示した点に本研究の学術的意義があり、また創薬シーズ等の新規効率的合成法を提供した点に社会的意義がある。

研究成果の概要(英文)：Natural product extracts are rich in a wide variety of molecules with diverse biological activities. This study achieved the chemical engineering of a mixture of natural product extracts and demonstrated a unique synthetic route to a series of natural product hybrids, whereby otherwise unencountered naturally occurring molecules of different origins were chemically connected in complex media. Even though these reactions took place in complex media containing a mixture of natural product extracts, the well-designed process exhibited a good conversion efficiency (~60%), chemoselectivity, and reproducibility. Additionally, some of the Ugi adducts exhibited promising inhibitory activity toward protease or anti-austerity activity (cytotoxicity against PANC-1 pancreatic cancer cells).

研究分野：有機合成化学

キーワード：天然物誘導体 天然物様分子 Ugi反応 非天然型アミノ酸 非天然型ペプチド アンモニア-Ugi反応
天然物コネクティッド型分子

様式 C-19、F-19-1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

薬用植物や微生物などの天然物を溶媒抽出することによって得られる天然物抽出物は、構造的複雑性と多様性に富む天然有機分子の集合体であり、生物活性分子の宝庫である。このような天然物抽出物そのものを基質とした合成研究は、「天然物抽出物のケミカルエンジニアリング」と呼称され、天然資源を起点とした天然物様分子 (natural product-like molecules) の直截的合成法として注目されている¹⁾。本法の特長は、天然物抽出物に含まれる多種多様な天然有機分子群に対して合成化学ならではの分子変換 (たとえば、四置換炭素や複素環の構築、官能基変換など) を施し新規の天然物様分子群を一挙に合成できる点にある。一方で、天然物抽出物には数百にも及ぶ天然有機分子が含まれているため、それに対して有機合成試薬を添加すると、予期せぬ副反応や構成成分の分解、反応後に残存する反応試薬により、系は一層複雑化する。これを多様性の拡大²⁾と捉えることもできるが、予測の範囲を大きく逸脱した無秩序な骨格改変や誘導体化は新規生物活性分子などの有用分子の供給とは直接的には結びつかない。結果として、本法に関連した研究例は僅少のままで、研究の余地と発展の可能性を残していた。さらに、これまでの国内外の関連研究のいずれもが、天然物抽出物に比較的多く含まれる「単独」の官能基成分 (天然有機分子) を標的とした並列分子変換であった。そのため、当該成分をそれぞれ単離したのち個別に誘導化する既存の研究手法に対する本法の優位性が低い点にも課題を残していた。

2. 研究の目的

以上の背景を踏まえて、本研究では、天然物抽出物の混合物を基質とした多成分連結合成法を開発し、起源の異なる「複数」の官能基成分 (天然有機分子) が反応して同一分子として連結した天然物コネクティッド型分子 (natural product hybrids) の一挙合成法を開発することとした。また、従来法では単離が難しい不安定成分や微量成分などの未開拓天然有機分子を直接分子変換に付して、単離容易な天然物様分子へと変換し単離・構造決定することにより、天然物抽出物に埋没する未開拓天然有機分子を能動的に発掘することを目標とした。

3. 研究の方法

本研究では、天然物コネクティッド型分子の一挙合成のための合成反応として Ugi 4 成分連結反応 (Ugi 反応) を選択した。Ugi 反応とは、アルデヒドまたはケトン、カルボン酸、第 1 級アミン、イソニトリルの 4 成分連結反応である。ここで、これら 4 つの基質成分のうち天然物における出現頻度の大きいケトンとカルボン酸の 2 成分を天然物抽出物とした Ugi 反応を実施することにより、起源の異なる 2 つの天然有機分子が反応して同一分子に組み込まれた天然物コネクティッド型分子 (Ugi 付加体) を一挙に合成できると着想した。

初めに、市販のモデル化合物を用いて、Ugi 反応条件を最適化するとともに基質適用範囲を調査した。次に、基質となる天然物抽出物を選定した。続いて、2 つの天然物抽出物を組み合わせ混合したものを基質とし、最適化した Ugi 反応条件に付した。分子変換の成否は、反応前後の天然物抽出物の構成成分の変化を TLC により比較分析し判定した。反応成績体の単離・精製は、シリカゲルカラムクロマトグラフィーと分取 TLC を組み合わせることにより行った。

4. 研究成果

生薬ガジュツのメタノール抽出物 (ケトン源)、トウゴマ由来のひまし油脂肪酸混合物 (カルボン酸源)、ベンジルアミン、およびシクロヘキシルイソシアニドの 4 成分をそれぞれ当物質で混合し、別途最適化した Ugi 反応条件に付した。ここで、ガジュツ抽出物中のカルボニル含量は、2,4-dinitrophenylhydrazine を用いた呈色反応によりメントン換算量として定量し、ひまし油脂肪酸混合物中のカルボン酸含量は中和価により推定した (図 1 左挿入図)。得られた反応混合物をシリカゲルカラムクロマトグラフィーと分取 TLC を用いて繰り返し分離・精製したところ、トウゴマ由来の (*R*)-ricinoleic acid とガジュツ由来の curcumenone が反応して連結した新規天然物コネクティッド型 Ugi 付加体 **1** を得た (図 1)³⁾。**1** のジアステレオマー比はおおよそ 1:1 であった。ガジュツ抽出物と反応混合物のそれぞれをシリカゲルカラムクロマトグラフィーを用いて 6 つの画分に分画し TLC 展開して比較すると、反応により消失したスポットと新たに出現した複数のスポットのそれぞれを容易に同定できた (図 2A,B)。TLC の解析結果に基づいてさらに単離を進めると、トウゴマ由来の dimeric (*R*)-ricinoleic acid、oleic acid および linoleic acid とガジュツ由来の curcumenone がそれぞれ反応して連結した新規天然物コネクティッド型 Ugi 付加体 **2-4** を得た。さらに、トウゴマ由来の benzaldehyde と (*R*)-ricinoleic acid が反応した新規 Ugi 付加体 **5**、ならびにガジュツ由来の curcumenone と acetic acid が反応した新規 Ugi 付加体 **6** を得て、合計 6 種の新規天然物様 Ugi 付加体を一度の合成操作で得ることができた。このとき、**1&5, 3, 4** の単離収量比はトウゴマにおける当該カルボン酸の含量比に概ね一致した。天然物抽出物のカルボン酸の組成情報を、反応成績体の収量比に転写して可視化できたことになる。また、高極性で紫外線吸収のない脂肪酸を単離することなく混合物のまま直接利用できた点は、本法の長所と言える。なお、別途ガジュツ抽出物を調製し、シリカゲルカラムクロマトグラフィーと分取 TLC を繰り返して curcumenone を単離して抽出物中の curcumenone の含量を概算し、本分子変換

の分子変換効率を算出したところ 62%と見積もられた。夾雑系の生薬抽出物を基質とした合成反応としては、満足のいく収率である。以上のように、高い化学選択性と分子変換効率を兼ね備えた Ugi 反応は、天然物抽出物の混合物を基質とした夾雑系においても系の複雑化を伴うことなく生成物を同定・単離するのに十分な化学選択性を持って進行し、天然物コネクティッド型分子の一挙合成法として利用可能であることが明らかとなった。本結果は、天然物抽出物のケミカルエンジニアリングによって天然物連結型分子群の一挙合成に成功した初めての研究例である。

続いて、得られた各種天然物様分子の生物活性評価を実施した。その結果、これらの分子のうちいくつかは α -キモトリプシン阻害活性³⁾あるいは栄養飢餓耐性解除戦略に基づく抗がん活性⁴⁾を示すことを明らかとした。

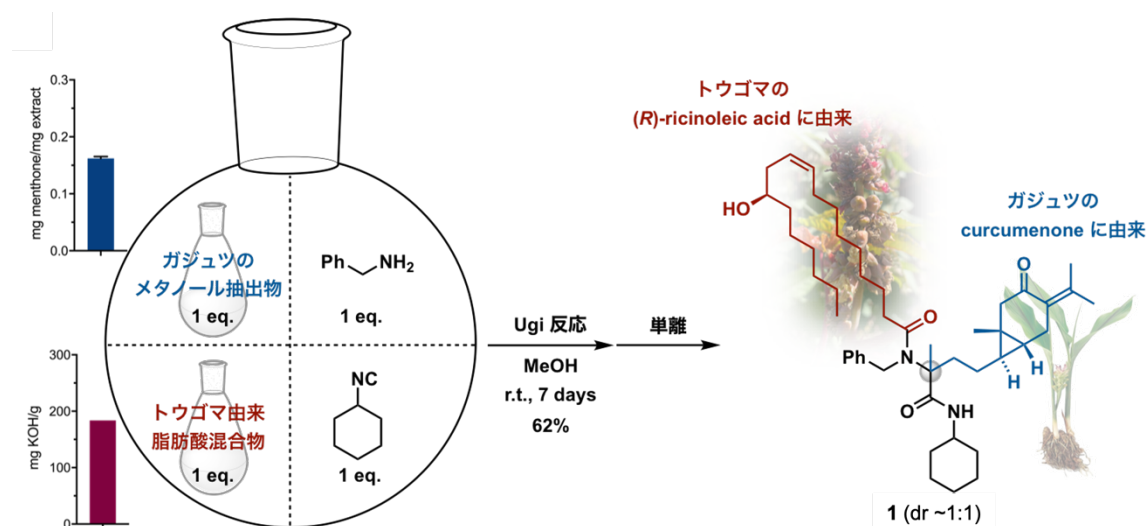


図 1. Ugi 反応を用いた天然物コネクティッド型分子の合成

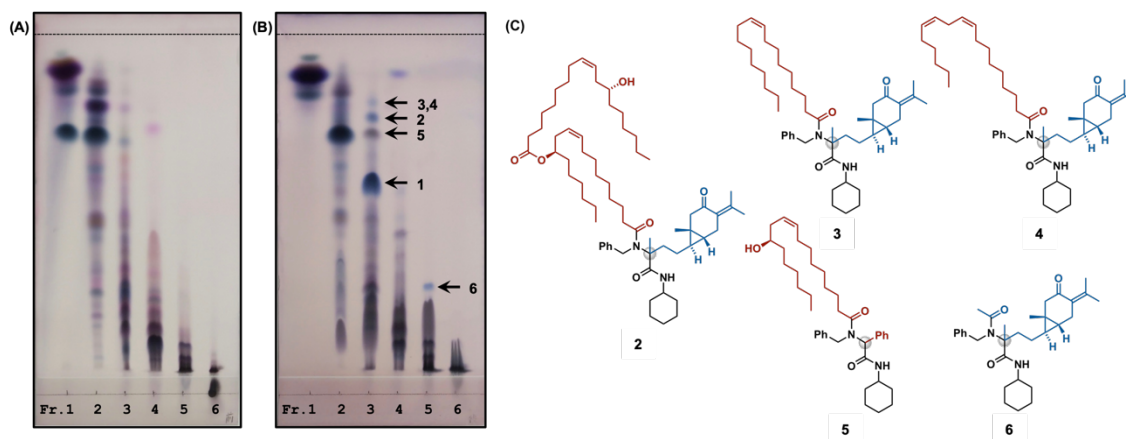


図 2. ガジュツ抽出物 (A) および Ugi 反応混合物 (B) を 6 つの画分に分画後 TLC にスポットし、CHCl₃/酢酸エチル (19:6) を展開溶媒として展開し、酸性 *p*-アニスアルデヒド溶液で染色したもの。(C) 単離した天然物様 Ugi 付加体の化学構造。

<引用文献>

- 1) A. Beato, R. Haudecoeur, B. Boucherle, M. Peuchmaur, *Chem. Eur. J.*, **30**, e202304166 (2024).
- 2) H. Kikuchi, K. Sakurai, Y. Oshima, *Org. Lett.*, **16**, 1916–1919 (2014).
- 3) K. Tomohara, N. Ohashi, T. Uchida, T. Nose, *Sci. Rep.*, **12**, 15568 (2022).
- 4) K. Tomohara, J. Maneenet, N. Ohashi, T. Nose, R. Fujii, M. J. Kim, S. Sun, S. Awale, *Biol. Pharm. Bill.*, **46**, 1412–1420 (2023).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Keisuke Tomohara*, Nao Ohashi, Tatsuya Uchida, Takeru Nose.	4. 巻 12
2. 論文標題 Synthesis of natural product hybrids by the Ugi reaction in complex media containing plant extracts	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 15568
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-19579-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 友原啓介	4. 巻 58
2. 論文標題 夾雑系生薬抽出物を基質とした天然物コネクティッド型分子群の一斉化学合成	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 ファルマシア	6. 最初と最後の頁 1120-1124
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.14894/faruawpsj.58.12_1120	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shogo Sumiyoshi, Keitaro Suyama, Daiki Tatsubo, Naoki Tanaka, Keisuke Tomohara, Suguru Taniguchi, Iori Maeda, Takeru Nose*	4. 巻 12
2. 論文標題 Metal ion scavenging activity of elastin-like peptide analogues containing a cadmium ion binding sequence	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 1861
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-022-05695-w	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Keisuke Tomohara*, Juthamart Maneene, Nao Ohashi, Takeru Nose, Rintaro Fujii, Min Jo Kim, Sijia Sun, Suresh Awale*	4. 巻 46
2. 論文標題 Ugi Adducts as Novel Anti-Austerity Agents Against PANC-1 Human Pancreatic Cancer Cell Line: A Rapid Synthetic Approach	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biological and Pharmaceutical Bulletin	6. 最初と最後の頁 1412-1420
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1248/bpb.b23-00224	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Daiki Tatsubo, Keitaro Suyama, Naoki Sakamoto, Keisuke Tomohara, Suguru Taniguchi, Iori Maeda, Takeru Nose*	4. 巻 62
2. 論文標題 Determining the sequence-dependency of self-assembly of elastin-like peptides using short peptide analogs with shuffled repetitive sequences	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Biochemistry	6. 最初と最後の頁 2559-2570
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.biochem.3c00146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Shogo Sumiyoshi, Keitaro Suyama, Naoki Tanaka, Takumi Andoh, Akihiko Nagata, Keisuke Tomohara, Suguru Taniguchi, Iori Maeda, Takeru Nose*	4. 巻 12
2. 論文標題 Development of truncated elastin-like peptide analogues with improved temperature-response and self-assembling properties	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 19414
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-022-23940-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Naoki Tanaka, Keitaro Suyama, Keisuke Tomohara, Iori Maeda, Takeru Nose*	4. 巻 -
2. 論文標題 Branched short elastin like peptides with temperature responsiveness obtained by EDTA mediated multimerization	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Peptide Science	6. 最初と最後の頁 e3449
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/psc.3449	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 草場智, 友原啓介, 野瀬健
2. 発表標題 アンモニア-Ugi反応の開発および非天然型 α -2置換アミノ酸含有ペプチドのde novo合成への応用
3. 学会等名 日本薬学会第143年会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 友原啓介、大橋奈央、野瀬健
2. 発表標題 ハイブリッド型天然物様 Ugi 付加体の一斉化学合成
3. 学会等名 第23回天然薬物の開発と応用シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 友原啓介、草場智、田中尚輝、野瀬健
2. 発表標題 アンモニア-Ugi反応を用いたエラスチン様ペプチドアナログの合成
3. 学会等名 日本薬学会第144年会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 友原啓介
2. 発表標題 天然物様分子の合成と生物活性評価
3. 学会等名 京都薬科大学 創薬科学フロンティア研究センター講演会（招待講演）
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 友原啓介
2. 発表標題 非天然型アミノ酸含有ペプチドの迅速合成と機能評価
3. 学会等名 九州大学理学部化学教室 公開講演会 最新化学談話シリーズ 令和5年度前期特別談話会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 草場智, 友原啓介, 野瀬健
2. 発表標題 配座固定型 -キモトリブシン阻害剤の設計・合成・阻害活性評価
3. 学会等名 第60回化学関連支部合同九州大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 草場智, 友原啓介, 野瀬健
2. 発表標題 アンモニア-Ugi反応を用いた非天然型 α -2置換アミノ酸含有ペプチドの実践的合成法の開発
3. 学会等名 第21回次世代を担う有機化学シンポジウム
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 三成清香, 遠藤英樹, 有賀敏典, 高橋詩織, 井上登美子, 橋本愛, Jarunee Suwanrassamee, 日向伸介, 友原嘉彦, 高田晴美, 友原啓介	4. 発行年 2021年
2. 出版社 古今書院	5. 総ページ数 222
3. 書名 ちびまる子ちゃんの社会学	

〔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
---------	---------