

令和 4 年 6 月 1 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2019～2021

課題番号：19K06992

研究課題名(和文) 創薬化学を志向したロバストな有用官能基導入法の開拓

研究課題名(英文) Development of robust functionalization methods for biological applications

研究代表者

滝田 良 (Takita, Ryo)

東京大学・大学院薬学系研究科(薬学部)・准教授

研究者番号：50452321

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)：本研究は、生命科学・創薬化学への展開に資する“ロバストな”(金属)(触媒)反応による有用官能基導入法の開拓を目的とする。水を酸素源とする水中銅触媒芳香族化合物水酸化反応を開発し、それにあたり配位子として用いたスクロースの詳細な役割を実験と理論計算から明らかにした。また直鎖脂肪酸の位置および数選択的な重水素化プロセスを開発した。これを基盤として酸化脂肪酸由来のホスファチジルコリン合成に関与するアシルトランスフェラーゼを複数同定した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

水中で遷移金属触媒を用いた炭素-酸素結合形成反応を実現した。特に水溶性の生物活性分子に適用可能な反応の礎となる。また、脂肪酸の選択的重水素化反応を開発し、これを用いて酸化脂肪酸由来のホスファチジルコリン合成に関与するアシルトランスフェラーゼを同定した。酸化脂肪酸は生体内の代謝で生成するため、これを追跡することは困難であった。多様な脂肪酸に適用可能なプロセスであり、多彩な機能を示す脂質・脂肪酸の機能解明に貢献できる。

研究成果の概要(英文)：The development of robust functionalization methods for biological applications has been investigated in this research. Copper-catalyzed arene hydroxylation has been developed using water as an oxygen source as well as a sole solvent. Mechanistic investigations experimentally and theoretically revealed the dual role of sucrose. A concise protocol for the precisely controlled tetradeuteration of straight-chain fatty acids at the - and - positions has been also developed. The use of four deuterium atoms in fatty acids as well as a diagnostic peak of phosphatidylcholines thus obtained enabled the identification of acyltransferases that transfer the acyl moiety derived from an oxidized linoleic acid, hydroxyoctadecadienoic acid (HODE), to lysophosphatidylcholine.

研究分野：有機合成化学

キーワード：銅触媒 水酸化反応 DFT計算 直鎖脂肪酸 重水素化反応 アシルトランスフェラーゼ

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

有機金属化学の発展は、有機化学分野において大きな貢献を果たし、高度な分子変換・精密有機合成を可能にしてきた。しかしながら、創薬化学において満足はなく、特に有用官能基の迅速・効率的・選択的導入法の開拓は一層不可欠である。例えば、クロスカップリング反応の出現により芳香環連結の化学は大きく進展し、創薬のみならず、多様な有機材料等の機能性分子の科学が大きく進展した。一方で科学の進展により、当然常に新たな構造が求められ、そうした分子設計・結合形成を実現する強力な手法の開発が求められている。また、高価あるいは毒性の高い金属・配位子の使用、厳密無水・無酸素条件が必要など、「使い易さ」「実用性」の面も大きな課題である。

2. 研究の目的

本研究は上述の背景のもと、生命科学・創薬化学への展開に資する“ロバストな”(金属)(触媒)反応による有用官能基導入法の開拓を目的とする。その具体的な目標として、1) 銅など安価かつ低毒性の金属種を触媒とする炭素-ヘテロ元素および炭素-炭素結合形成反応を開発、2) 反応試薬として水、重水、アンモニア水など安価かつ安定な試薬を活用、3) 複雑な配位子を用いない、厳密無水条件を必要としない、など「使い易い」「実用的な」反応を目指した反応開発に取り組む。

3. 研究の方法

1) 水を酸素源とする銅触媒芳香族化合物水酸基導入反応

以前に開発したアミノ化反応を基に、水中での銅触媒水酸化反応の開発に取り組んだ。

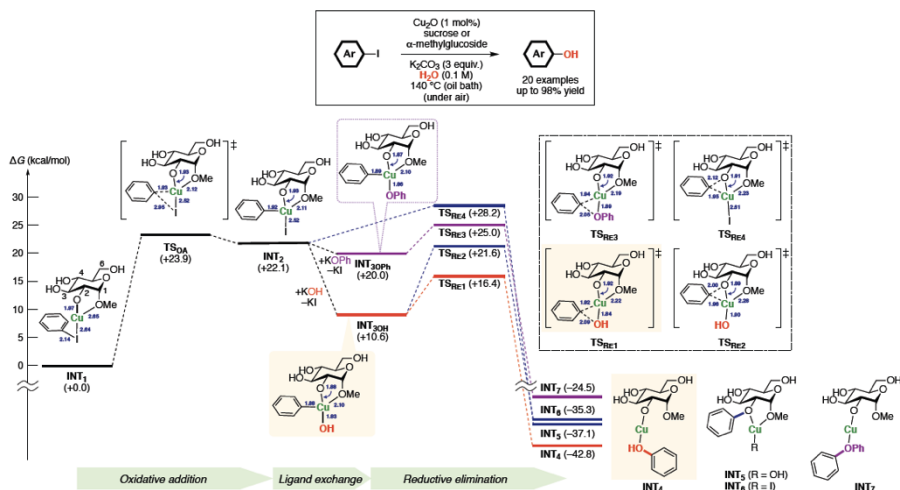
2) 直鎖脂肪酸の位置および数選択的重水素化プロセスの開発と酸化脂肪酸の代謝過程の解明

分子構造とその機能が直結する脂質・脂肪酸の科学を切り拓くべく、直鎖脂肪酸の選択的重水素化反応に取り組んだ。重水素源としては重水やメタノール-*d*₁ など安価で使い易い試薬の使用を検討した。反応条件についても厳密な無水条件などを排し、実用的なプロセスの構築を目論んだ。

4. 研究成果

1) 水を酸素源とする銅触媒芳香族化合物水酸基導入反応

アニリン誘導体、フェノール誘導体は医薬品などの機能性分子に広く見られる構造であり、その合成法の開拓は重要である。申請者らは、先にアンモニア水を唯一の溶媒として用いることで銅触媒による芳香族化合物のアミノ化反応を開発した。本反応では、アンモニア水が反応試薬・配位子・溶媒の三役を担うことで効率的に反応が進行することを実験データと理論計算より明らかにした。これらの結果を基に水を酸素源とする水酸基導入反応の開発に取り組んだ。当初の検討により、アミノ化反応の際と異なり水を唯一の溶媒とするため、銅触媒の反応性の低さと基質の溶解性の低さが課題であることが判明した。そこで配位子や界面活性剤などの添加効果を多角的に検討した。その結果、スクロースを添加した際に大きな加速効果が見られ、目的のフェノール誘導体が高収率にて得られることを見出した。本反応系は種々の(ヘテロ)芳香族化合物に適用可能であり、空気中でも反応が行える。またグラムスケールでの反応も問題なく進行するなど、堅牢な反応である。特にスクロースの役割を明らかにすべく、反応機構の解析に取り組んだ。理論計算より、スクロースの部分構造が配位した銅錯体は酸化的付加段階を促進すること並びに高い選択性にて反応が進行する理由が明らかとなった。また基質の溶解性の向上にも寄与していることなどが示され、本銅触媒反応におけるスクロースの役割が明らかとなった。



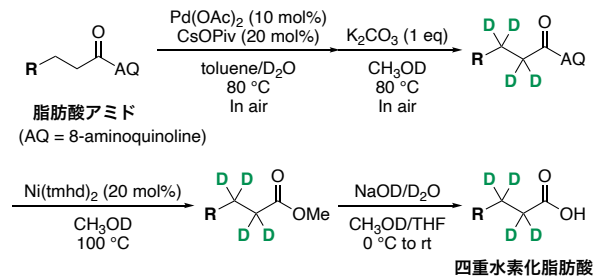
2) 直鎖脂肪酸の位置および数選択的重水素化プロセスの開発と酸化脂肪酸の代謝過程の解明

脂質・脂肪酸は非常に多様な代謝を受け、また多彩な生理機能を示す。代謝によって生じる様々な構造を有する脂質・脂肪酸の標識化合物は限られており、代謝産物や希少脂肪酸の構造・定量・機能解明を困難にしている。例えばリノール酸から生体内にて生成する酸化脂肪酸 HODE (ヒドロキシオクタデカジエン酸)由来のリン脂質は、様々な疾患との関連性が指摘されているが、その詳細は分かっていない。現在、脂質・脂肪酸の検出・同定には LC-MS/MS 法(液体クロマトグラフィー-タンデム質量分析法)が最も強力な分析法である。そのためターゲットとする脂質分子を構成する元素の一部を質量の異なる同位体に置換したプローブ分子を用いることができれば、脂質の構造変化を詳細に追跡できる。そのようなプローブ分子の構造要件として、目的とする脂質分子の特定の位置に、特定の数だけ重水素などの安定同位体が導入された化合物が必要である。しかし、脂質分子中の特定の元素を厳密に安定同位体に置換することは複雑な合成を必要とするなど困難であることが多く、膨大な種類の脂質を解析するための一般性の高い方法論が必要とされていた。

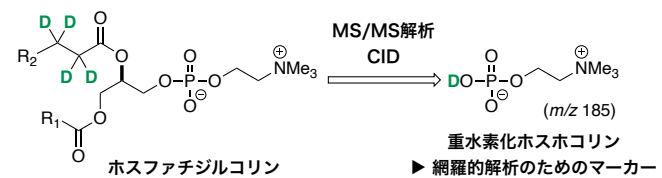
申請者らは、①目的とする脂質の特定の箇所を厳密に安定同位体に置換できること、②様々な種類の脂質について適用可能であること、③安価・安全な試薬を用いた簡便な反応を用いること、を特徴とする安定同位体の新たな導入方法の開発を目指した。脂肪酸は多くの種類の脂質の一部として含まれる脂質の基本構造であることから、脂肪酸を安定同位体で標識することができれば、様々な脂質を合成できる。脂肪酸の側鎖は炭素数や二重結合の数や位置、酸素官能基の有無など多様な構造により構成されているが、すべての脂肪酸は共通して末端にカルボキシ基を有している。このカルボキシ基を足がかりとすることで、少ない工程数かつ温和な反応条件で、多様な脂肪酸に重水素を位置および数を制御して導入する方法を開発した。実際にこの方法を用いて、4つの重水素を位置選択的に導入したリノール酸(リノール酸- d_4)をグラムスケールで容易に合成できることも示した。

本方法で得られた四重水素化脂肪酸のアシル基を有するホスファチジルコリンは、MS/MS 解析においてプロダクトイオンとして選択的にホスホコリン- d_1 を与える。したがって、これを追跡することで対象とする脂肪酸を含んだホスファチジルコリンを網羅的に解析することが可能となった。そこで、得られたリノール酸- d_4 をヒトの血小板に添加し、リノール酸の代謝産物を LC-MS/MS によって解析した。その結果、リノール酸の一部は血小板によって酸化脂肪酸 HODE へと変換され、さらにリン脂質の一部として取り込まれることを見出した。さらに、この HODE 由来のアシル基がリン脂質に取り込まれる過程を詳細に解析し、この HODE 由来のアシル基をリゾリン脂質に転移させる酵素として AGPAT7, LPCAT1, LPCAT2 の3つのアシルトランスフェラーゼを同定した。

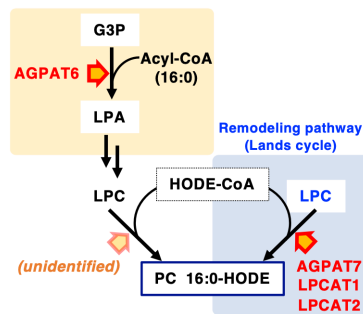
a) 四重水素化脂肪酸の合成プロセス



b) ホスファチジルコリンのMS/MS解析



c) HODE由来のホスファチジルコリン合成過程



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 7件 / うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Watanabe Ayako, Hama Kotaro, Watanabe Kohei, Fujiwara Yuko, Yokoyama Kazuaki, Murata Shigeo, Takita Ryo	4. 巻 -
2. 論文標題 Controlled Tetradeuteration of Straight Chain Fatty Acids: Synthesis, Application, and Insight into the Metabolism of Oxidized Linoleic Acid	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202202779	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 Watanabe Kohei, Pang Jia Hao, Takita Ryo, Chiba Shunsuke	4. 巻 13
2. 論文標題 Generation of organo-alkaline earth metal complexes from non-polar unsaturated molecules and their synthetic applications	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 27 ~ 38
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D1SC05724C	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 該当する
1. 著者名 Pang Jia Hao, Wang Bin, Watanabe Kohei, Takita Ryo, Chiba Shunsuke	4. 巻 104
2. 論文標題 Hydroalkylation of Styrenes with Benzylamines by Potassium Hydride	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Helvetica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 e2100120
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hlca.202100120	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 該当する
1. 著者名 Fujiyama Keisuke, Kato Naoki, Re Suyong, Kinugasa Kiyomi, Watanabe Kohei, Takita Ryo, Nogawa Toshihiko, Hino Tomoya, Osada Hiroyuki, Sugita Yuji, Takahashi Shunji, Nagano Shingo	4. 巻 60
2. 論文標題 Molecular Basis for Two Stereoselective Diels-Alderases that Produce Decalin Skeletons	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 22401 ~ 22410
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202106186	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 Wang Bin, Li Yihang, Pang Jia Hao, Watanabe Kohei, Takita Ryo, Chiba Shunsuke	4. 巻 60
2. 論文標題 Hydromagnesiation of 1,3 Enynes by Magnesium Hydride for Synthesis of Tri and Tetra substituted Allenes	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Angewandte Chemie International Edition	6. 最初と最後の頁 217 ~ 221
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/anie.202012027	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 該当する

1. 著者名 Watanabe Kohei, Takagi Mio, Watanabe Ayako, Murata Shigeo, Takita Ryo	4. 巻 18
2. 論文標題 Cu(I)/sucrose-catalyzed hydroxylation of arenes in water: the dual role of sucrose	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Organic & Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 7827 ~ 7831
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D00B01683G	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 Wang Bin, Ong Derek Yiren, Li Yihang, Pang Jia Hao, Watanabe Kohei, Takita Ryo, Chiba Shunsuke	4. 巻 11
2. 論文標題 Stereo-controlled anti-hydromagnesiation of aryl alkynes by magnesium hydrides	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Science	6. 最初と最後の頁 5267 ~ 5272
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0SC01773F	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 該当する

1. 著者名 Hayashi Hirohito, Wang Bin, Wu Xiangyang, Teo Shi Jie, Kaga Atsushi, Watanabe Kohei, Takita Ryo, Yeow Edwin K. L., Chiba Shunsuke	4. 巻 362
2. 論文標題 Biaryl Cross Coupling Enabled by Photo Induced Electron Transfer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Advanced Synthesis & Catalysis	6. 最初と最後の頁 2223 ~ 2231
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adsc.201901601	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 該当する

1. 著者名 Pang Jia Hao, Ong Derek Yiren, Watanabe Kohei, Takita Ryo, Chiba Shunsuke	4. 巻 52
2. 論文標題 Leaving Group Ability in Nucleophilic Aromatic Amination by Sodium Hydride/Lithium Iodide Composite	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Synthesis	6. 最初と最後の頁 393 ~ 398
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/s-0039-1690010	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 該当する

1. 著者名 Ong Derek Yiren, Watanabe Kohei, Takita Ryo, Chiba Shunsuke	4. 巻 102
2. 論文標題 Mechanistic Insights on Reduction of Carboxamides by Diisobutylaluminum Hydride and Sodium Hydride-Iodide Composite	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Helvetica Chimica Acta	6. 最初と最後の頁 e1900166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/hlca.201900166	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 該当する

[学会発表] 計3件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 渡邊康平、高木美緒、渡辺順子、村田茂穂、滝田良
2. 発表標題 銅触媒による芳香族化合物のロバストな官能基導入反応
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 渡邊康平、高木美緒、渡辺順子、村田茂穂、滝田良
2. 発表標題 理論計算に基づいた遷移金属触媒による芳香環の官能基変換反応
3. 学会等名 第36回有機合成化学セミナー
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 渡邊康平、高木美緒、渡辺順子、村田茂穂、滝田良
2. 発表標題 銅触媒による芳香族化合物のロバストな官能基導入反応
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

〔出願〕 計1件

産業財産権の名称 1. 重水素化標識化合物およびその製造方法	発明者 滝田 良、渡辺 順子、渡邊 康平、濱弘太郎、横山 和明	権利者 同左
産業財産権の種類、番号 特許、2020-124674, PCT/JP2021/027395	出願年 2020年	国内・外国の別 外国

〔取得〕 計0件

〔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		
シンガポール	Nanyang Technological University		