

氏名(本籍)	竹村拓馬(埼玉県)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	博甲第6389号
学位授与年月日	平成25年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
審査研究科	数理物質科学研究科
学位論文題目	Studies on the Total Synthesis and the Mode of Actions of Auripyrones (オーリピロン類の全合成と生物活性発現機構に関する研究)
主査	筑波大学教授 理学博士 木越英夫
副査	筑波大学教授 理学博士 関口章
副査	筑波大学教授 工学博士 鍋島達弥
副査	筑波大学教授 理学博士 市川淳士

論文の内容の要旨

天然から得られる化合物には有用な生物活性を持つものがあり、これらの化合物は医薬品などとしての応用が期待される。しかしこれらの化合物は天然からは微量しか得られないことも多く、生物活性を詳細に研究するためには有機合成による供給が必要不可欠となる。そのため、天然物の合成研究は精力的に行われており、その課程で新たな反応も開発されている。

また、天然物の生物活性発現機構の解明は、医薬品への応用を考える上で重要となる。新たな生物活性発現機構を持つ化合物を突き止めれば、既存の医薬品では治療が困難な疾患の理解につながると期待される。生物活性発現機構の研究には、人工類縁体の合成と構造活性相関の研究、および分子プローブを用いた細胞内局在解析や標的分子の同定などがあるが、いずれも分子設計および有機合成による供給が重要になってくる。

今回、 γ -ピロンの新規アルドール型反応の開発とそれを利用した海洋軟体動物タツナミガイより単離された細胞毒性ポリケチド、オーリピロン A、B の全合成、さらに全合成を基盤とする生物活性発現機構の研究を行った。

一般に γ -ピロン化合物は、対応するトリケトンの脱水環化で合成されるが、基質に含まれる官能基が反応条件に不安定な場合には収率が大きく低下するという問題がある。そのため、 γ -ピロン環に隣接する不斉中心が存在する場合に効果的な合成経路は限られている。そこで、 γ -ピロンのアルドール型反応を行うことで、 γ -ピロンに直接不斉中心を導入する戦略を考案した。

まず、アルドール型反応の反応条件を検討した。塩基を用いる条件について、LDA を用いると基質が分解し再現性に乏しい結果となった。一方、ヘキサメチルジシラジドを用いると基質の分解は起こらなかった。この反応条件では、対金属カチオンの種類によって収率が大きく変化し、NaHMDS を用いる条件が最も良い結果(収率 76%, *anti:syn* = 2.8:1)となった。ついで、 γ -ピロンのシリルエノールエーテルを利用する向山アルドール型反応について種々のルイス酸を検討した。その結果、四塩化チタンを用いる条件が最も良い収率と選択性を与えた(収率 70%, *anti:syn* = 6.4:1)。しかし、アルデヒドの立体障害に敏感であることが

分かった。

反応機構についても検討した。 γ -ピロンのエノラートをシリルエノールエーテルとして捕捉したところ、Zの幾何配置を持つことが分かった。さらに重水素化実験、メチル化実験などにより、本アルドール反応はオリゴマー遷移状態を取る反応機構であると推測した。*syn* 体を与える遷移状態はアルデヒドの炭素鎖とエノラートの β 位メチル基の間に立体障害が発生するため、本反応は*anti* 体を優先して与えると考察した。

開発した新規アルドール型反応を鍵反応に用いて、オーリピロン A, B の合成を行った。キラルなアルデヒドを用いて γ -ピロンのアルドール型反応を行った結果、目的の三連続不斉中心を持つアルドールが主生成物として得られた(収率 68%、目的物：異性体 = 2.2 : 1)。この立体選択性は前述の反応での選択性および Felkin-Anh モデルで説明できる。一方、シリルエノールエーテルとの向山アルドール型反応では収率・選択性ともに塩基性条件よりも低い結果となった(収率 38%、目的物：異性体 = 0.7 : 1)。これはモデル基質よりもアルデヒドの立体障害が大きくなったことが原因であると考えた。

得られた化合物のヒドロキシ基を TBS 基で保護し、続いてトリチル基の除去と酸化によってアルデヒドを得た(4段階収率 90%)。このアルデヒドに Brown らが開発した不斉クロチル化を行うことで、目的の五連続不斉中心を持つホモアリルアルコールを単一の立体異性体として得た(収率 71%)。ヒドロキシ基をアシル化し、さらにアルデヒドへと変換した後、向山-Paterson アルドール反応により C14-C20 セグメントと連結することでアルドールを得た(4段階収率 64%)。次いで TES 基の除去、Dess-Martin 酸化によってトリケトンとした(2段階収率 61%)。TBS 基をフッ化水素・ピリジン錯体により除去した結果、自発的にスピロアセタール化も進行し、オーリピロン A が得られた(収率 25%)。合成されたオーリピロン A は測定した全てのスペクトルで天然物と良い一致を示した。

また、同様の合成法を用いてオーリピロン B の合成を達成し、これまで不明であったオーリピロン B の側鎖部の相対立体化学、および絶対立体化学を決定した。

オーリピロン類の各種ヒト腫瘍細胞に対する細胞毒性を比較(がん細胞パネルスクリーニング)した結果、既存の抗腫瘍薬とは活性パターンが一致せず、新たな機構で細胞毒性を示すことが示唆された。そこで、細胞毒性発現機構を調べるためにオーリピロン類の分子プローブを合成することにした。

分子プローブを合成する場合、元の生物活性を損なわない位置で修飾することが重要になる。天然型のオーリピロン A, B、天然物の立体異性体、および共同研究者が行った人工類縁体の構造活性相関を調べた結果、オーリピロン類は側鎖アシル基の構造を変化させてもほぼ天然物と同等の活性を示すことが分かった。そこで、側鎖部を修飾したプローブを合成することにした。

側鎖部にヘキシノイル基を導入したオーリピロン誘導体と蛍光基テトラメチルローダミンを持つアジドを Huisgen 反応で連結することで、オーリピロン蛍光プローブを調製した(収率 30%)。この蛍光プローブを用いてオーリピロン類の細胞内局在を解析した結果、オーリピロン類の分布は細胞核やミトコンドリアとは一致せず、細胞質全体に分布していることが分かった。このことから、オーリピロン類は細胞質タンパク質と結合することで細胞毒性を示していることが示唆された。

そこで、磁力を用いて標的分子の精製を行うことができる Ferrite-Glycidyl methacrylate (FG) ビーズにオーリピロンを結合させることにした。側鎖をアミノ基で修飾したオーリピロンと NHS エステルを持つ FG ビーズを結合させることでオーリピロンの FG ビーズを調製した。今後、この修飾 FG ビーズを用いてオーリピロン類の細胞内標的分子のアフィニティー精製を行う予定である。

審査の結果の要旨

本研究では、まず、様々な海洋天然物の合成に利用できる γ -ピロンの立体選択的アルドール型反応を開

発した。これは、従来の γ -ピロン化合物の合成反応と比較して、幅広い官能基を持つ目的化合物の合成に利用できるものであり、合成化学的に有用なものである。さらに、この反応を利用して生物活性を有する海洋産 γ -ピロン型天然物の全合成を行った。この合成により、これまで不明であった天然物の絶対立体化学を決定した。さらに、本天然物の生物活性発現機構解明のための研究を行い、蛍光基を持つ誘導体（蛍光プローブ）を合成した。この化合物を用いて細胞内の分布を観察した結果、この化合物は細胞質内に広く分布しており、核、ミトコンドリアなど特定の組織に局在化していないことが分かった。よって、細胞質内のタンパク質を標的とすることが予想されたため、そのタンパク質を同定するためにナノ磁性微粒子に本天然物を固定することにも成功した。

本研究は、反応開発から全合成と生物活性機能に関する研究までを行ったものであり、天然物有機化学・生物有機化学分野において有益な知見を提供したものとして評価される。

平成 25 年 2 月 18 日、数理物質科学研究科学位論文審査委員会において審査委員の全員出席のもと、著者に論文について説明を求め、関連事項につき質疑応答を行った。その結果、審査委員全員によって、合格と判定された。

上記の論文審査ならびに最終試験の結果に基づき、著者は博士（理学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。