

## 天然物合成を基軸とした小分子プローブ創成と化学生物学研究



大阪電気通信大学工学研究科 先端理工学専攻 講師 齊藤 安貴子

## はじめに

天然には、生活に密着し日々摂取・接触しているにもかかわらず、その機能・役割が明らかとなっていない小分子化合物が多数存在する。筆者は、天然から単離することが困難な化合物に着目し、天然物合成を基軸とし、生物活性試験などに必要な化合物を純粋かつ大量に供給すること、また、生物活性を指標とした分子プローブのデザインと合成を行い、そして、それらを用いた化学生物学研究を行っている。

## 1. Proanthocyanidin の立体選択的合成法の開発とプローブ化研究

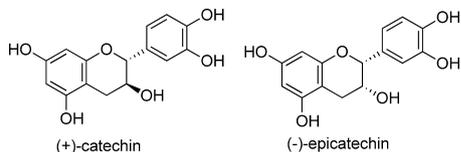


図1 プロシアニジンを構成する (+)-catechin と (-)-epicatechin の構造

Proanthocyanidin (PA) は、お茶やカカオなどの嗜好品、古代米などの穀物、ブドウなどの果物類、多くの植物に含まれる高機能性のポリフェノール化合物である。これらは、極めて強い抗酸化活性・抗腫瘍活性・動脈硬化抑制活性など、さまざまな生物活性を示す。しかしながら、天然からは複雑な類縁体混合物として得られ純粋に単離することが難しい。さらに、NMR 測定における回転異性体の検出や、シグナルのブロードニングなどの問題もあり、詳細な構造-活性相関や活性発現機構はほとんど解明されていない。そこで、天然 PA の大部分を占める (+)-catechin と (-)-epicatechin (図1) からなる procyanidin 類を標的化合物に選び、その C4-C8 位間結合体の高収率・立体選択的な合成法の開発を行った。合成ユニットをベンジル基で保護し、TMSOTf を触媒として用いることで 3,4-*trans* 体を、高収率かつ高立体選択的に得る方法を見いだした(図2)。この方法を用いることで、3,4,5 量体、さらに、ガロイル基や脂肪鎖で修飾した化合物を効率的に合成可能であった。さらに、天然に存在するが通常の条件では合成できなかった 3,4-*cis* 型オリゴマーを、選択的に合成できる分子内縮合反応の開発に成功した(図3)。この2種類の合成法により縮合部分の立体化学を自由に制御可能となった。

これまでに、本研究のように、多種類の PA 化合物を純粋に合成して同時に生物活性を調べた例はない。この研究により、PA の生物活性を網羅的に調べることを可能にし、有用性を研究するための基盤を築くことができたと考えている。そして各種合成類縁体の生物活性試験に基づく構造-活性相関を確立した。さまざまな生物活性試験を行った結果、従来 PA の活性には重合度が重要とされてきたが、対タンパク質活性について

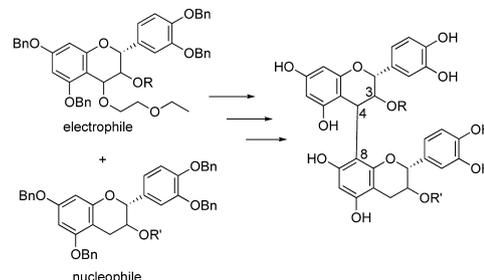


図2 分子間縮合反応による 3,4-*trans* 型選択的合成法

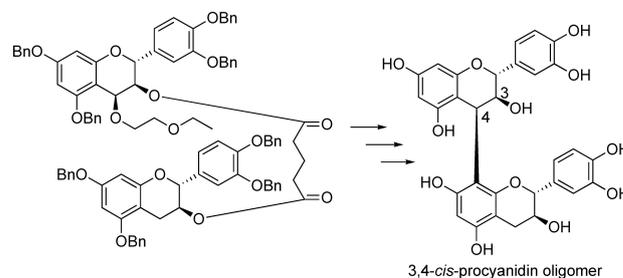


図3 分子内縮合反応による 3,4-*cis* 型選択的合成法

は、化合物とタンパク質の物理的な相互作用が深く関与していることが示唆された。

これらの化合物について化学生物学研究を行うために、分子プローブの合成を進めた。さまざまな検討を重ねた結果、合成ユニットにシリル系保護 (TBDMS) 基を用いることで、分子内の複数ヒドロキシ基のうち、5位のみを位置選択的に脱保護し、かつ、縮合反応のジアステレオ選択性をさらに向上させることに成功した(図4)。このような位置選択的脱保護はこれまでに報告例がないことに加え、生物活性に影響が少ない5位の脱保護にも成功したことになる。すなわち、このフェノール性ヒドロキシ基の位置選択的脱保護は、各基の生物活性への影響を詳細に調べることを可能とするだけでなく、分子プローブ作成のためのリンカー導入部位を確保できたことを意味し、PA の化学生物学研究のさらなる発展を可能とした。現在、この方法を用いた合成研究、および、分子プローブ作成、タンパ

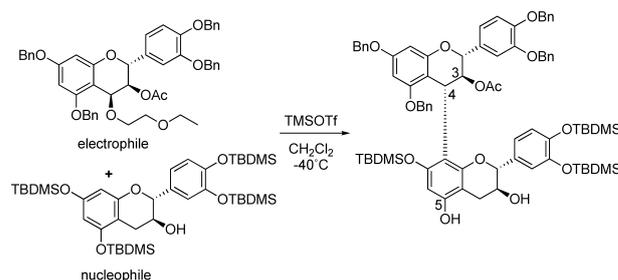


図4 位置選択的脱保護を伴う 3,4-*trans* 型選択的合成

ク質との物理的相互作用に関する研究を行っている。

## 2. 小分子化合物とタンパク質の相互作用評価および構造-活性相関研究

近年、天然有機化合物をはじめとする小分子化合物と、タンパク質などの生物物質との物理的相互作用を検出する手法の開発が進んでいる。相互作用の検出には、貴重な少量の小分子側を固相に固定化することが効率的であると考えられるが、複雑な構造の天然物の固定化は極めて困難である。それを可能にした技術が理化学研究所長田研究室で開発された光親和型の小分子化合物固定化法である。筆者は、光親和型のチップ技術用のリンカーの改良を行い、小分子化合物とタンパク質の相互作用を効率的に検出可能とした。その一例として、図5に光親和型 SPR イメージング法を用いた p38 MAPK と p62 タンパク質との相互作用部位についての研究成果を示した。SPR イメージング法とは、基板上に固定化された物質と生体分子などの相互作用を検出するチップ技術であり、蛍光などのラベルを必要としないが、検出可能であるはずの既知の相互作用が検出できない事例がしばしばある。それゆえ、感度向上のための研究を行い、p38 MAPK と p62 の物理的相互作用部位を決定することができた。また、本講演では p38 MAPK の阻害剤として見いだされた 7-hydroxy-3-benzyl-4-methylcoumarin についてさまざまな類縁体を合成し、SPR イメージング法を用いることで、p38 MAPK との物理的結合に必要な官能基を決定した研究についても述べる。小分子化合物とタンパク質との物理的相互作用を指標にした評価方法と天然物合成の技術を用いることで、生物物質の機能を阻害する物質の探索や機能を調べることを効率的に進めることが可能である。

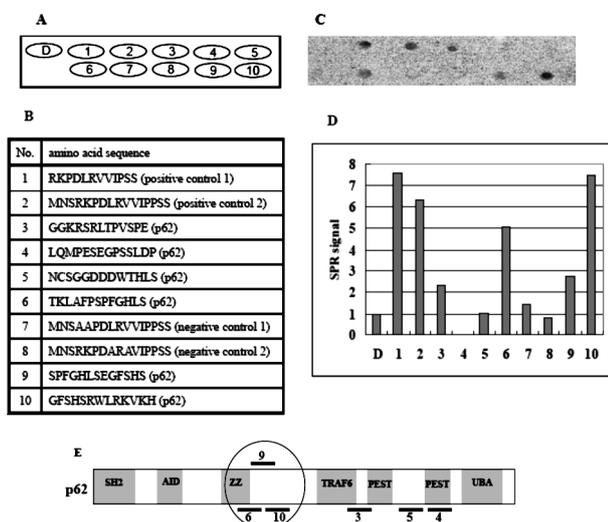


図5 SPR イメージング法を用いた p38 MAPK と p62 由来ペプチドとの相互作用検出

## 3. 上水道異臭味（かび臭）物質に関する研究

2-Methylisoborneol (2-MIB) や (-)-geosmin は、富栄養化した湖などでしばしば発生し、食品の風味を損なう異臭味物質（かび臭物質）として知られている。これらの化合物は 29 ng/L という非常に低濃度で異臭味として感じられ、揮発性が高いにもかかわらず煮沸や通常の浄水処理では完全に除去できない。水を多く用いる食品業界では、これらカビ臭の除去が喫

緊の課題である。候補者は、バイオレメディエーションによるカビ臭物質の分解除去を目的に、化学合成した 2-MIB と (-)-geosmin を用いてそれぞれの分解菌を発見し、なかでも *Enterobacter cloacae* により (-)-geosmin が効率的に分解されることを見いだした。さらにこれらの分解経路を、推定中間体を化学合成し決定した（図6）。

また、この研究を進めるためにはかび臭物質が大量に必要であった。そこで、効率的な新規合成法の開発にも着手し、 $\alpha,\beta$ -不飽和ケトンの立体選択的還元反応を鍵反応とした (-)-geosmin の効率的合成法の開発も行った（図7）。

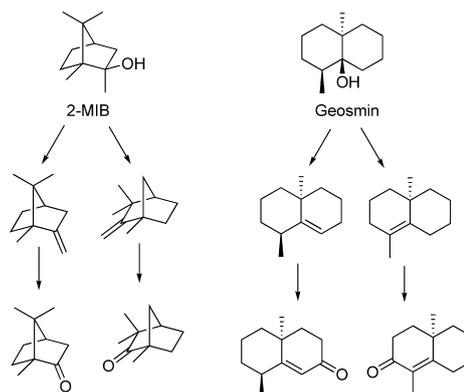


図6 決定した上水道異臭味物質の分解経路

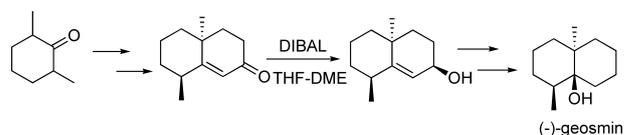


図7 (-)-Geosmin の立体選択的合成法

本研究は、東北大学農学研究科、富山県バイオテクノロジーセンター（富山県立大学）、(独)理化学研究所 長田抗生物質研究室、大阪電気通信大学工学研究科で行ったものです。学生時代から温かいご指導ご鞭撻を賜りました東北大学名誉教授・折谷隆之先生、富山県立大学・田中陽光先生、東北大学・清田洋正先生に心より御礼申し上げます。富山県バイオテクノロジーセンターにおきまして、proanthocyanidin の合成研究を行う機会を与您いただきました。富山県立大学・生方 信先生（現 北海道大学）、中島範行先生、松浦信康先生（現 岡山理科大学）に心より感謝申し上げます。当該分野において、生物活性試験等で多大なご協力を賜りました神戸学院大学・水品善先生に深く感謝いたします。(独)理化学研究所 長田抗生物質研究室におきまして、化学生物学研究を行う機会を与您いただいた長田裕之主任研究員、叶 直樹研究員（現 東北大学）、須藤龍彦研究員、渡辺信元研究員、近藤恭光研究員に心より感謝申し上げます。本研究成果は、共に研究を行った多くの先生方、技術員の方々、そして研究室をゼロから立ち上げてくれた大阪電気通信大学の学生たちに支えられて得られたものです。この場を借りて深く感謝いたします。最後になりましたが、本奨励賞にご推薦くださいました東北大学大学院農学研究科・清田洋正先生、ならびにご支援賜りました諸先生に厚く御礼申し上げます。