

アカデミックプログラム [A講演] | 16. 天然物化学・ケミカルバイオロジー：口頭A講演

2024年3月19日(火) 15:55 ~ 16:55 会 H933(9号館 [3階] 933)

**[H933-2vn] 16. 天然物化学・ケミカルバイオロジー**

座長：大好 孝幸、中村 文彬

## ◆ 日本語

15:55 ~ 16:05

[H933-2vn-01]

海洋天然物 Mycalolide C の標的分子および作用機序に関する研究

○海老原 尚平<sup>1</sup>、中谷 優寿<sup>1</sup>、北 将樹<sup>1</sup> (1. 名古屋大学大学院生命農学研究科)

## ◆ 日本語

16:05 ~ 16:15

[H933-2vn-02]

作用機序解明を指向したAplyronine Aの合成研究

○鈴木 麻戸香<sup>1</sup>、吉田 将人<sup>1</sup>、木越 英夫<sup>1</sup> (1. 筑波大院数理物質)

## ◆ 日本語

16:15 ~ 16:25

[H933-2vn-03]

簡略型ハイブリッドを利用したアプリロニンAの構造活性相関研究

○平野 貴大<sup>1</sup>、大好 孝幸<sup>1</sup>、木越 英夫<sup>1</sup> (1. 筑波大院数理物質)

## ◆ 日本語

16:25 ~ 16:35

[H933-2vn-04]

ジテルペン合成酵素を用いた大環状複素環の合成

○遠藤 聖也<sup>1</sup>、堀 建哉<sup>1</sup>、中山 淳<sup>1</sup>、保野 陽子<sup>2</sup>、葛山 智久<sup>3</sup>、品田 哲郎<sup>1</sup> (1. 大阪公立大学、2. 九州大学、3. 東京大学)

## ◆ 日本語

16:35 ~ 16:45

[H933-2vn-05]

ヒストン修飾調節活性を示すミクロネシア産海綿由来化合物の探索

○一藁 拓真<sup>1</sup>、喜納 惟斗<sup>2</sup>、中村 文彬<sup>2</sup>、中尾 洋<sup>1,2,3</sup> (1. 早大先進理工、2. 早大院先進理工、3. 早大理工総研)

## ◆ 日本語

16:45 ~ 16:55

[H933-2vn-06]

マレーシア産黒コショウより抽出された、神経幹細胞分化調節活性を有する化合物の探索

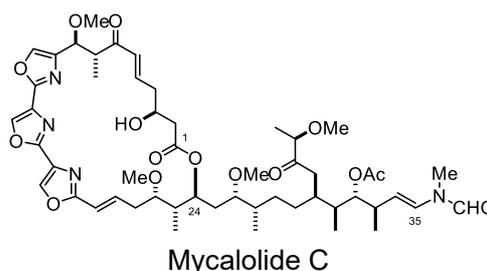
○船木 美穂<sup>1</sup>、玉澤 理彩<sup>2</sup>、神平 梨絵<sup>2</sup>、中村 文彬<sup>2</sup>、中尾 洋<sup>1,2,3</sup> (1. 早大先進理工、2. 早大院先進理工、3. 早大理工総研)

## 海洋天然物 Mycalolide C の標的分子および作用機序に関する研究

(名大院生命農<sup>1</sup>) ○海老原 尚平<sup>1</sup>・中谷 優寿<sup>1</sup>・北 将樹<sup>1</sup>

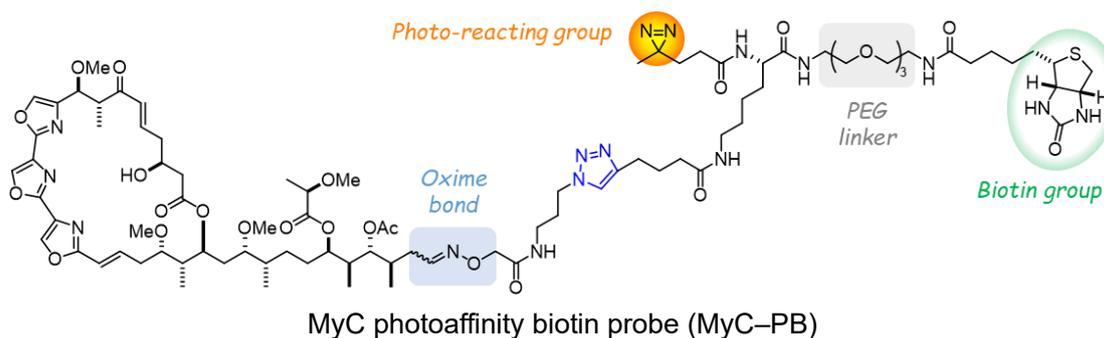
Target identification and mode of action studies on mycalolides C, a marine macrolide  
(<sup>1</sup>Graduate School of Bioagricultural Sciences, Nagoya University) ○Shohei Ebihara<sup>1</sup>,  
Masatoshi Nakatani<sup>1</sup>, Masaki Kita<sup>1</sup>

Mycalolides are marine natural products that show potent antiproliferative activity against HeLa S3 cells<sup>1)</sup> and antimycotic activity. Mycalolides exhibit actin-depolymerizing activity by forming a 1:1 complex with actin<sup>2)</sup>. The presence of the additional target biomolecule is expected, since Mycalolides show activities at much lower concentration than that of cellular actin. To identify additional target proteins of these, we designed a photoaffinity biotin derivative of Mycalolide C (MyC) including diazirine as a reacting group. Chemical labeling studies and affinity purification of target proteins are in progress.



**Keywords:** Antitumor Marine Natural Products; Photoaffinity Labeling; Target Identification

ミカロライド類は海綿から単離・構造決定された強力な抗増殖阻害活性<sup>1)</sup>および抗菌活性を示すマクロリド化合物である。本化合物は細胞骨格タンパク質アクチンと1:1で結合して強力なアクチン脱重合活性を示す<sup>2)</sup>が、細胞内のアクチンの濃度よりもはるかに低い濃度で活性を示すことから、第2の標的生体分子の存在が予想されている。そこで本研究ではミカロライド類の未知のターゲットの同定と作用機序の解明を目指して、ミカロライド C (MyC) を誘導化し、光反応基としてアルキルジアジリン基を導入した光親和性プローブを合成し、標的分子の特異的なラベル化およびアフィニティー精製を試みた。



- 1) N. Fusetani, *et al. Tetrahedron Lett.* **1989**, 30, 2809.
- 2) S. Saito, *et al. J. Biol. Chem.* **1994**, 269, 29710.

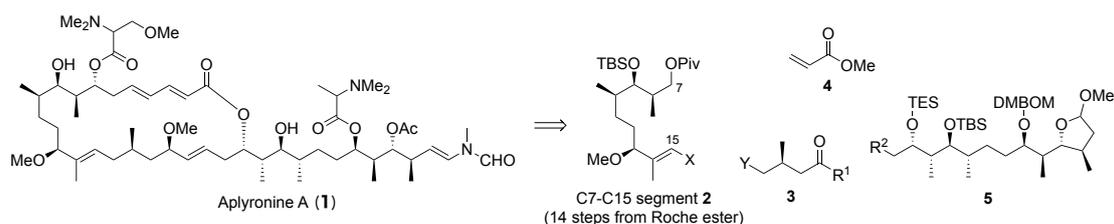
## 作用機序解明を指向した Aplyronine A の合成研究

(筑波大院数理物質) ○鈴木 麻戸香・吉田 将人・木越 英夫  
 Synthetic Study of Aplyronine A toward Clarification of Mechanism of Action (*Degree Programs in Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba*) ○Madoka Suzuki, Masahito Yoshida, Hideo Kigoshi

Aplyronine A (ApA), a 24-membered macrolide isolated from *Aplysia kurodai*, exhibits strong cytotoxicity against HeLa S<sub>3</sub> cells (IC<sub>50</sub> = 0.039 ng/mL). We have recently reported that ApA forms a 1:1:1 heterotrimeric complex with actin and tubulin. Details of its mechanism of action are still unclear, but the amount of natural ApA is insufficient to clarify the mechanism of action. Thus, we planned a scale-up synthesis of ApA and investigated the synthesis of macrolactone moiety of ApA. The retrosynthesis of ApA is shown in Scheme 1. ApA (**1**) could be divided into four segments: C7–C15 segment **2**, carbonyl compound **3**, methyl acrylate (**4**), and side-chain moiety **5**. In addition to the reported synthesis of **5**, we achieved the synthesis of **2**, which was prepared from commercially available (*R*)-Roche ester in 14 steps by asymmetric crotylation and Noyori's asymmetric transfer hydrogenation. In this presentation, we will report details of the synthetic study of each segment and the investigation of their coupling reaction.

**Keywords** : Natural Product; Macrolide; Cytotoxicity

Aplyronine A (ApA) は海洋軟体動物アメフラシ *Aplysia kurodai* から単離された 24 員環マクロライドであり、ヒト子宮頸がん細胞に対する強力な細胞毒性 (IC<sub>50</sub> = 0.039 ng/mL) を示す<sup>1)</sup>。最近我々は、ApA がアクチン、チューブリンと 1:1:1 の三元複合体を形成することを報告しているが<sup>2)</sup>、その作用機序は未解明の部分も多い。そこで、さらなる機構解明を目的として、天然からの供給量が少ない ApA の有機合成による量的供給を試みた。ApA の逆合成を Scheme 1 に示す。目的とする ApA (**1**) は、C7–C15 セグメント **2**、カルボニル化合物 **3**、アクリル酸メチル (**4**)、側鎖部 **5** の 4 つのセグメントから合成することとした。現在までに **5** の合成<sup>3)</sup>に加え、**2** の合成を市販の *R* 体の Roche エステルを原料に、不斉クロチル化と野依不斉水素移動反応を鍵反応に用いて、14 工程で達成した。本発表では各セグメントの合成の詳細と、セグメント間のカップリングを検討した結果について報告する。



Scheme 1 Aplyronine A (**1**)の逆合成

### References

- 1) Yamada, K.; Ojika, M.; Ishigaki, T.; Yoshida, Y.; Ekimoto, H.; Arakawa, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 11020–11021.
- 2) Kita, M.; Hirayama, Y.; Yoneda, K.; Yamagishi, K.; Chinen, T.; Usui, T.; Sumiya, E.; Uesugi, M.; Kigoshi, H. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, *135*, 18089–18095.
- 3) 鈴木麻戸香, 吉田将人, 木越英夫, 日本化学会第 103 春季年会 D1443-2vn-08.

## 簡略型ハイブリッドを利用したアプリロニン A の構造活性相関研究

(筑波大院数理物質<sup>1</sup>) ○平野 貴大<sup>1</sup>・大好 孝幸<sup>1</sup>・木越 英夫<sup>1</sup>

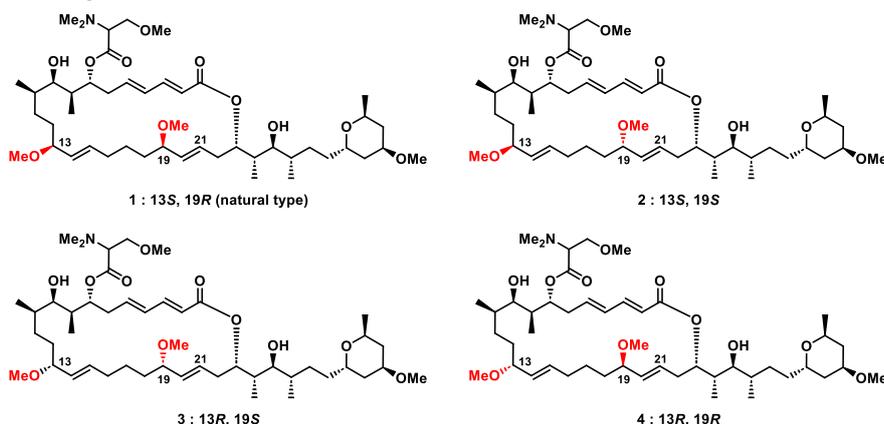
Structure–Activity Relationship Study of Aplyronine A Using Simplified Hybrids

(<sup>1</sup> Degree Programs in Pure and Applied Sciences, University of Tsukuba) ○Takahiro Hirano,<sup>1</sup> Takayuki Ohyoshi,<sup>1</sup> Hideo Kigoshi,<sup>1</sup>

Aplyronine A (ApA) is a 24-membered ring macrolide and is expected to be a lead compound for new anticancer drugs due to its unique mechanism of action. Although structure–activity relationship studies have been performed in our laboratory using simplified hybrid analogs of aplyronine A, the structure–activity relationship of the C13–C21 positions of the macrolactone has not been fully investigated. In this study, for structure–activity relationship studies of this region, we established a new synthetic route to the hybrid analog **1** and its analogs **2–4** (Scheme 1). These four analogs differ in the configurations of the oxygen functional group at C13 and C19 positions, and the biological evaluation of these analogs is expected to provide new insights into the structure–activity relationship of the southern part of the macrolactone.

*Keywords* : macrolide, natural products, aplyronine A

アプリロニン A (ApA)は 24 員環マクロライドであり、その特異な作用機序から新たな抗がん剤のリード化合物として期待されている。これまでに当研究室ではアプリロニン A の構造簡略型ハイブリッドアナログを用いることで構造活性相関研究を行ってきたが、マクロラク톤の C13–C21 位の構造活性相関については不十分である。そこで今回、この部分の構造活性相関研究を指向した新たな合成経路を確立し、**1** 及びその類縁体 **2–4** の合成を行った (Scheme 1)。これら 4 種類の類縁体は C13 位、及び C19 位の酸素官能基の立体様式が異なるものであり、これらの類縁体の生物活性評価を行うことでマクロラクトン下部の構造活性相関に関して新たな知見が得られることが期待される。



Scheme 1 合成した 4 種類の類縁体

## ジテルペン合成酵素を用いた大環状複素環の合成

(阪公大院理<sup>1</sup>・九大院理<sup>2</sup>・東大院生命農<sup>3</sup>) ○遠藤 聖也<sup>1</sup>・堀 建哉<sup>1</sup>・中山 淳<sup>1</sup>・保野 陽子<sup>2</sup>・葛山 智久<sup>3</sup>・品田 哲郎<sup>1</sup>

Synthesis of Macroheterocycles Using Diterpene Synthase (<sup>1</sup>Osaka Metropolitan University, <sup>2</sup>Kyushu University, <sup>3</sup>Tokyo University) ○Seiya Endo,<sup>1</sup> Ken-ya Hori,<sup>1</sup> Atsushi Nakayama,<sup>1</sup> Yoko Yasuno,<sup>2</sup> Tomohisa Kuzuyama,<sup>3</sup> Tetsuro Shinada<sup>1</sup>

CotB2 is a diterpene synthase found in the actinomycete *Streptomyces melanosporofaciens* MI614-43F2.<sup>1</sup> This synthase catalyzes the cyclization of geranylgeranyl diphosphate (GGPP, **1**) to give cyclooctat-9-en-7-ol (**2**), 5-8-5 fused-ring diterpene with six chiral centers.<sup>2</sup>

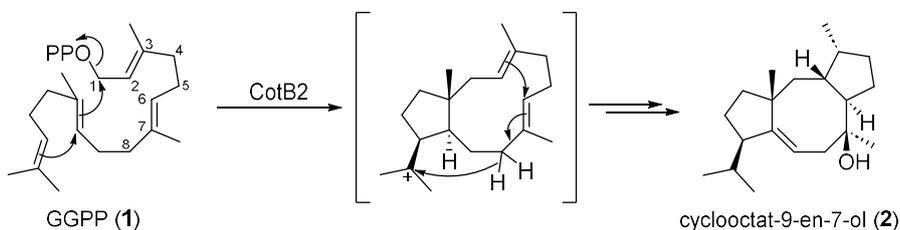
In this study, we designed unnatural substrates with heteroatoms at 6 to 8-position of GGPP. If the designed substrates are accepted by CotB2, novel macroheterocyclic compounds would be produced. In this presentation, we will report the synthetic progress.

**Keywords** : Terpene; Terpene Synthase; Macroheterocyclic Compound

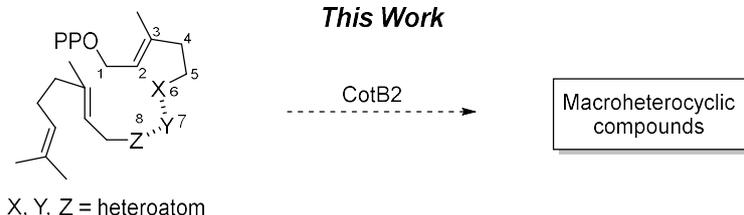
CotB2 は放線菌 *S. melanosporofaciens* MI614-43F2 から見出されたジテルペン環化酵素である<sup>1)</sup>。本酵素はゲラニルゲラニルニリン酸 (GGPP, **1**) を基質として、6つの不斉点を持ち5-8-5縮環構造を有する cyclooctat-9-en-7-ol (**2**) への環化を触媒する<sup>2)</sup>。

今回、GGPP の6-8位にヘテロ原子を導入した非天然型鎖状基質を設計し、それらの合成と酵素反応を試みた。設計基質が CotB2 によって環化すれば大環状複素環が得られると期待した。本発表では、これまでの結果について報告する。

## Cyclization of GGPP



## This Work



- 1) S-Y. Kim, P. Zhao, M. Igarashi, R. Sawa, T. Tomita, M. Nishiyama, T. Kuzuyama, *Chem. Biol.* **2009**, *16*, 736.
- 2) A. Meguro, Y. Motoyoshi, K. Teramoto, S. Ueda, Y. Totsuka, Y. Ando, T. Tomita, S-Y. Kim, T. Kimura, M. Igarashi, R. Sawa, T. Shinada, M. Nishiyama, T. Kuzuyama, *Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4353.

## ヒストン修飾調節活性を示すミクロネシア産海綿由来化合物の探索

(早大先進理工<sup>1</sup>・早大院先進理工<sup>2</sup>・早大理工総研<sup>3</sup>) ○一藁 拓真<sup>1</sup>・喜納 惟斗<sup>2</sup>・中村 文彬<sup>2</sup>・中尾 洋一<sup>1,2,3</sup>

Search for marine natural products regulating histone modifications from the Micronesian marine sponge (<sup>1</sup>*School of Advanced Science and Engineering, Waseda University*, <sup>2</sup>*Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University*, <sup>3</sup>*Research Institution for Science and Engineering, Waseda University*) ○Takuma Ichiwara,<sup>1</sup> Yuto Kina,<sup>2</sup> Fumiaki Nakamura,<sup>2</sup> Yoichi Nakao<sup>1,2,3</sup>

Histones are responsible for complex regulation of gene expression through chemical modifications such as phosphorylation, methylation, and acetylation. It has been suggested that the accumulation of abnormal modifications caused by stress may related to diseases such as cancer, diabetes, depression,<sup>1)</sup> and so on. In this study, we focused on marine organisms that contain a variety of bioactive compounds in order to search for compounds that modulate histone modifications as potential therapeutic agents against various diseases.

In the screening using the cell-based histone modification assay system,<sup>2)</sup> the extract of the Micronesian sponge (designated to S09420) upregulated histone acetylation levels. This sponge was extracted, and the concentrated extract was separated by solvent partitioning, and ODS flash column chromatography. The fraction that showed the activity to upregulate histone acetylation levels was further separated by HPLC to yield active fractions.

*Keywords* : Marine Natural Products; Histone Modifications

ヒストンはメチル化やアセチル化などの化学修飾によって複雑な遺伝子発現制御を担っており、加齢やストレスなどにより生じる異常な修飾が蓄積することでがん・糖尿病・うつ病などの疾病に関与している可能性が示唆されている<sup>1)</sup>。そこで様々な疾病に対する治療薬となりうるヒストン修飾調節活性化合物を探索することを目的とし、多様な生物活性化合物を含む海洋生物に着目した。

海洋生物サンプルに対し、HeLa 細胞を用いたセルベースヒストン修飾調節活性試験<sup>2)</sup>によるスクリーニングを行った結果、ミクロネシア産海綿にヒストンアセチル化修飾レベルを著しく上昇させる活性が認められた。本海綿の抽出物を濃縮後、溶媒分配および ODS flash カラムクロマトグラフィーを行い、得られた 6 画分についてヒストン修飾調節活性試験を実施した。ヒストンアセチル化を亢進する活性が見られた画分について HPLC に付し、活性本体の精製を試みたので報告する。

- 1) Sun, H.; Kennedy, P. J.; Nestler, E. J. Epigenetics of the depressed brain: role of histone acetylation and methylation. *Neuropsychopharmacology* **2013**, *38*, 124-137.
- 2) Hayashi-Takanaka, Y.; Kina, Y.; Nakamura, F.; Becking, L. E.; Nakao, Y.; Nagase, T.; Nozaki, N.; Kimura, H. Histone modification dynamics as revealed by multicolor immunofluorescence- based single-cell analysis. *J. Cell Sci.* **2020**, *133*, jcs243444.

## マレーシア産黒コショウより抽出された、神経幹細胞分化調節活性を有する化合物の探索

(早大先進理工<sup>1</sup>・早大院先進理工<sup>2</sup>・早大理工総研<sup>3</sup>) ○船木 美穂<sup>1</sup>・玉澤 理彩<sup>2</sup>・神平 梨絵<sup>2</sup>・中村 文彬<sup>2</sup>・中尾 洋一<sup>1,2,3</sup>

Search for Malaysian black pepper components that regulate neural stem cell differentiation (<sup>1</sup>*School of Advanced Science and Engineering, Waseda University*, <sup>2</sup>*Graduate School of Advanced Science and Engineering, Waseda University*, <sup>3</sup>*Research Institution for Science and Engineering, Waseda University*) ○Miho Funaki<sup>1</sup>, Risa Tamazawa<sup>2</sup>, Rie Kamihira<sup>2</sup>, Fumiaki Nakamura<sup>2</sup>, Yoichi Nakao<sup>1,2,3</sup>

Neurons and astrocytes are generated by differentiation from neural stem cells (NSCs), and it has become clear that abnormalities in the astrocyte differentiation is related to the development of Alzheimer's disease<sup>1)</sup>. Therefore, compounds that modulate NSC differentiation are expected to be useful in the treatment of neurodegenerative diseases. In this study, we screened 26 food samples for regulating activity of NSC differentiation. As the result, Malaysian black pepper, was found to promote astrocyte differentiation.

The extract of 950 g of Malaysian black pepper with MeOH and CHCl<sub>3</sub> was subjected to ODS flash chromatography to obtain seven fractions. These were tested for modulating activity of NSC differentiation, and the 85% MeCN-eluting fraction showed astrocyte differentiation promoting activity. These active fractions were further purified by HPLC to yield 5 components. Analysis of NMR and MS spectra of the obtained compounds indicated 4 out of five compounds are new. These compounds were evaluated for their activity in regulating NSC differentiation.

*Keywords* : Neural differentiation; Piper nigrum; Natural Products Chemistry

ニューロンや、グリア細胞の一つであるアストロサイトは、神経幹細胞 (NSC) の分化により生じるが、アルツハイマー病患者ではアストロサイトの分化異常が認められている<sup>1)</sup>。そのため、NSC の分化を調節する化合物が、神経変性疾患の治療に役立つことが期待される。本研究では、26 種類の食品サンプルを対象とした NSC 分化調節活性スクリーニングにおいて、アストロサイト分化促進活性が認められたマレーシア産黒コショウについて活性本体の探索を行った。

マレーシア産黒コショウ 950 g を MeOH および CHCl<sub>3</sub> によって抽出し、濃縮した抽出物を ODS フラッシュカラムクロマトグラフィーに付して 7 画分を得た。得られた画分について NSC 分化調節活性試験を行い、アストロサイト分化促進活性を示した 85% MeCN 溶出画分を、高速液体クロマトグラフィーによってさらに精製し、5 つの化合物を得た。得られた化合物の NMR および MS スペクトルを測定し、構造解析を行った結果、4 種類が新規化合物であることが示唆された。また、これら化合物の NSC 分化調節活性を調べたので報告する。

1) Feanklin, H.; Clarke, E. B.; Patani, R., Astrocytes and microglia in neurodegenerative diseases: Lessons from human in vitro models. *Prog. Neurobiol.* **2020**, 101973-101986.