

Title	液胞型ATPアーゼを特異的に阻害するバフィロマイシンのフッ素標識体の設計および合成
Author(s)	柴田, 一
Citation	
Issue Date	
Text Version	ETD
URL	<a href="https://doi.org/10.18910/34051">https://doi.org/10.18910/34051</a>
DOI	10.18910/34051
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

## 論文内容の要旨

氏 名 ( 柴 田 一 )	
論文題名	液胞型ATPアーゼを特異的に阻害するバフィロマイシンのフッ素標識体の設計および合成
<p><b>論文内容の要旨</b></p> <p>液胞型ATPアーゼ (V-ATPase) は水素イオンを能動輸送する膜貫通型タンパク質であり、種々の生理現象に密接に関連している。放線菌より単離されたマクロリド系天然物バフィロマイシンは、代表的なV-ATPase特異的阻害剤であり、骨粗鬆症やがん疾患との関連からも着目されている。その阻害機構は、膜貫通部位V<sub>o</sub>ドメインのサブユニットcに結合することが示唆されているが、リガンド複合体の構造を含め阻害機構の分子基盤は不明である。この最大の要因は、V-ATPaseが膜タンパク質であるため、通常のX線結晶構造解析や溶液NMR解析の適用が困難であることが挙げられる。近年、このような膜系における構造解析に有用な手法として、固体NMRを用いた距離測定 (<sup>13</sup>C{<sup>19</sup>F}REDOR等) が注目を集めている。本手法を適用するためには、バフィロマイシンに標識を導入した誘導体の設計とその調製が必須であり、特に長距離測定に有効なフッ素による標識が望まれる。そこで本研究では、活性を保持したフッ素標識化バフィロマイシン誘導体の開発を研究目的とした。すなわち、フッ素原子を導入しても活性に影響を与えないような誘導体を設計し、その効率的な合成、および生物活性の測定を実施することにした。</p> <p>まずフッ素導入の容易さ、導入した化合物の安定性、生物活性の3つの観点から考慮し、トリフルオロメチル基を分子骨格に導入したバフィロマイシン誘導体を設計した。次に誘導体を合成するため、すでに報告されている全合成研究も参考に3つのセグメントを連結する収束的合成法を立案し、各セグメントの効率的な合成を検討した。特に不斉点にトリフルオロメチル基を有するセグメントの合成においては、フッ素の影響による立体選択性の変化やエピメリ化などの問題が生じたものの、種々条件を検討することで望むフッ素セグメントの合成を達成した。続いて残る2つのセグメントの合成を行った後、各セグメントの連結を行った。フッ素セグメントの連結においては、合成法の考案の際にフッ素による影響が少ないと予想した方法を設定していたが、ここではその期待通り反応は高立体選択的に進行した。その結果、最長直線工程28段階、全収率0.16%、平均収率79%でフッ素標識化バフィロマイシン誘導体の合成を達成した。</p> <p>合成した誘導体の生物活性は、共同研究者に評価を依頼した。酵母由来の膜画分に対するV-ATPase阻害活性を評価した結果、フッ素誘導体は天然物と同等の強力なV-ATPase阻害活性を有していた。これによりフッ素標識化バフィロマイシン誘導体の開発に成功した。本研究は、フッ素標識を施したバフィロマイシン誘導体の最初の合成例であり、今後の阻害機構解明に大いに資することができる。</p>	

## 論文審査の結果の要旨及び担当者

氏 名 ( 柴 田 一 )			
	(職)	氏 名	
論文審査担当者	主 査	教 授	村田道雄
	副 査	教 授	深瀬浩一
	副 査	教 授	加藤修雄
論文審査の結果の要旨			
<p>柴田一氏は、微生物の生産する天然有機化合物・バフィロマイシン A の液胞型 ATP アーゼに対する阻害活性の分子機構について有機化学的アプローチから研究を行った。具体的には、バフィロマイシンのタンパク質上の結合位置と結合時の立体配座を求めるために必要な化合物の合成研究を行った。これらの研究には、膜タンパク質である作用標的タンパク質とバフィロマイシンの結合状態における構造を固体 NMR データをもとにして解析する必要がある。すなわち、標的タンパク質に対するバフィロマイシンの阻害活性を失うことなく、フッ素などの長距離の相互作用を観測できる NMR 核を導入しなければならない。このために、分子末端付近のイソプロピル基に代えてトリフルオロメチル基を導入したバフィロマイシンの新規誘導体を合成した。この過程で、フッ素を効率的かつ立体選択的に導入する合成経路を新たに開拓し、さらに既報の合成手法を改善することによって、本標識体を短期間で合成することに成功した。共同研究者によって阻害活性が調べられた結果、フッ素標識体は、天然物と同様に非常に強い液胞型 ATP アーゼ阻害活性を示したので、本標識体がタンパク質とバフィロマイシンの結合位置の解析に用いることができることが明らかとなった。近い将来、液胞型 ATP アーゼに結合した状態において固体 NMR の測定が行われる予定である。また、柴田氏はさらに簡便な標識体の合成を目指して、大環状ラクトン部分に含まれ、立体配置の制御において合成を困難化している 2 つのメチル基を除いた誘導体を合成した。この新規の誘導体はほとんど阻害活性を示さなかったため、活性を有する誘導体 (2 つのメチル基が存在するもの) との比較を行うことによって、バフィロマイシンを特徴づける大環状ラクトンの立体配座について貴重な知見を得ることに成功している。</p> <p>このように、柴田氏は、バフィロマイシン A の液胞型 ATP アーゼに対する阻害作用の分子機構について有機合成化学に立脚した研究を推進し、貴重な新知見を得た点においても学術的意義が大きい。以上のように、本論文は博士 (理学) の学位論文として十分価値あるものと認める。</p>			