

学 位 論 文 題 名

放線菌 *Nocardia brasiliensis* より単離した
Brasilinolide A と C および Brasilicardin B ～ D の構造研究

学位論文内容の要旨

はじめに

Nocardia 属の放線菌の一部の種は、「ノカルディア症」と呼ばれる日和見感染症の原因菌として知られる。当研究室ではこれまでに、*N. brasiliensis* IFM0406 株より、免疫抑制活性を示す新規 32 員環ポリヒドロキシマクロリド Brasilinolide A (1)、ならびに同活性を示す新規ジテルペン配糖体 Brasilicardin A (2)を単離し、1 については一部の相対立体配置が帰属されており、2 については全絶対立体配置が決定されている。

そこで本研究では、1) 未決定である 1 の 26 個の不斉炭素の全絶対立体配置の解明、2) 1 および 2 の新規類縁体の単離、構造解析、3) 2 の誘導体の調製と構造活性相関の検討、を目的として研究を行った。

1) Brasilinolide A (1)と C(3)の立体化学の解明

N. brasiliensis IFM0406 株の培養上清から、新規マクロリド Brasilinolide C (3)および新規テルペノイド Brasilicardin B (4)、C (5)、および D (6)を、Brasilinolide A (1)および Brasilicardin A (2)とともに単離した。

Brasilinolide C (3)の平面構造は、2D NMR スペクトル(^1H - ^1H COSY、TOCSY、HMQC、HMBC、および HSQC-TOCSY)の解析により、Brasilinolide A (1)のペンタン酸およびマロン酸が欠落した構造であることが明らかとなった。そこで、まず Brasilinolide C (3)について立体化学を解析し、その後で 3 との化学相関により Brasilinolide A (1)の立体化学を明らかにすることにした。

3 の ROESY スペクトルの解析から、糖部とテトラヒドロピラン環部分の相対配置が推定されたが、鎖状部分の立体化学を解析するのは困難であった。そこで、3 の分解セグメントを得ることにより、それらの立体化学を解析することとした。

3 の加水分解によりアグリコン部と糖部が得られ、その糖部については、ベンゾエート体の CD スペクトルに基づいて L-2-デオキシフコピラノースであると帰属した。一方、アグリコン部については、加水分解によりエポキシドへの分子内環化が進行し、新たにテトラヒドロピラン環とジオールが形成された。そこでアグリコンのヘミケタール部分を還元し、加溶媒分解でマクロラク톤を開環し、過ヨウ素酸で 1,2-ジオールの切断を行い、3 種のセグメント(C1-C15、C17-C27、C28-C37)を得た。

各セグメントは、3 ないし 4 個の二級水酸基を有しており、それを利用して立体化学の解析を行った。C1-C15 および C17-C27 セグメントの 1,3-ジオールについては、アセトナイド体に誘導し、それらのメチル基の ^{13}C 化学シフト値に対する Rychnovsky ルールを適用することにより、一方、1,3,5-トリ

オールについては、 ^{13}C 化学シフト値に対する岸らの NMR データベースとの比較から、これらの相対配置を帰属した。C28-C37 セグメントの 35,37-O-アセトナイド体の NOESY 相関から、C28-C37 の不斉炭素の相対配置を帰属した。9、13、19、および 31 位のアセトナイド化されていない二級水酸基については、改良 Mosher 法により絶対配置を帰属した。以上の結果から、既に相対配置を推定した部分(C15-C17)を含め、アグリコン部の 20 個の不斉炭素の絶対立体配置を帰属した。

残りの不斉炭素 2 個(C12、C27)のうちの C27 については、1,2-ジオールに位置するため、1,2-ジオールを保持したアセトナイド体に誘導し、NOESY 相関から絶対配置を帰属した。C12 は、1,5-ジオールの間に位置するため、分子内ケタール環化により 6 員環へ誘導し、NOESY 相関と結合定数から絶対配置を明らかとした。

以前の研究において絶対配置が未解明であった Brasilinolide A (1)については、その加水分解により 3 と同一のアグリコン部と糖部が生成したことから、1 の全絶対立体配置は 3 と同一であると帰属した。

2) Brasilicardin B-D (4-6)の構造解析

Brasilicardin B-D (4-6)については、2D NMR の解析によりそれらの平面構造ならびに相対立体配置を帰属した。それらの絶対配置については、加溶媒分解によりアグリコン部と糖部に分離後、糖部は標品の $[\alpha]_D$ との比較により、一方、アグリコンはベンゾエート体の CD スペクトルと改良 Mosher 法により帰属した。さらに 5 については、X線結晶解析により立体構造を確認した。

3) Brasilicardin A (2)の誘導体調製と活性評価

Brasilicardin A-D (2 および 4-6)の MLR アッセイの結果からは、16 位メキシ基の存在が活性に重要であると推定された。構造活性相関を検討する目的で、Brasilicardin A (2)の 9 個の誘導体を調製した。また、作用機構や分子標的を解明する目的で、2 のビオチン誘導体 2 個を調製した。これらの誘導体の免疫抑制活性については、現在検討中である。

考察

Brasilinolide A(1)および C(3)は、これまで報告されている関連マクロリド類の中で、全絶対配置が解明された初めての例である。本研究で用いた分解・誘導化反応と既存の立体化学解析法を組み合わせた方法は、類縁マクロリド化合物の絶対立体配置の解明にも応用可能と考えられる。

本研究により、Brasilinolide A(1)および C(3)の絶対立体配置が解明されたので、今後は、構造活性相関や作用機構の解明、分子標的の特定、などの研究を行う予定である。

本研究で取り上げた放線菌 *Nocardia brasiliensis* は、日和見感染症である「ノカルディア症」の病原菌であり、本菌が 1 や 2 のような免疫抑制物質を生産していることは、その発症メカニズムや予防・治療を考える上で興味深い。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	小 林 淳 一
副 査	教 授	橋 本 俊 一
副 査	助教授	中 島 誠
副 査	助教授	津 田 正 史

位 論 文 題 名

放線菌 *Nocardia brasiliensis* より単離した

Brasilinolide A と C および Brasilicardin B ～ D の構造研究

日和見感染症の原因菌として知られる *Nocardia* 属放線菌の一種 *N. brasiliensis* IFM0406 株からは、免疫抑制活性を示す 32 員環ポリヒドロキシマクロリド Brasilinolide A、ならびに同活性を示すジテルペン配糖体 Brasilicardin A が単離され、Brasilinolide A については一部の相対立体配置が、Brasilicardin A については全絶対立体配置が決定されている。

本研究では、未決定であった Brasilinolide A および関連新規マクロリド Brasilicardin C の 26 個の不斉炭素の絶対立体配置の解明するとともに、新規類縁体の単離、構造決定、構造活性相関の検討を行った。

1) Brasilinolide A と C の立体化学の解明

N. brasiliensis IFM0406 株より、新規マクロリド Brasilinolide C および新規テルペノイド Brasilicardin B ～ D を単離した。2D NMR データの解析により、Brasilinolide C の平面構造は、Brasilinolide A のペンタン酸およびマロン酸が欠落した構造であることを明らかにした。ROESY データからは、糖部とテトラヒドロピラン環部分の相対配置を推定し、鎖状部分の立体化学は分解セグメントを用いて解析した。加水分解より得られた糖部については、ベンゾエート体の CD スペクトルに基づいて帰属し、同様に得られたアグリコン部については、ヘミアセターセ部分を還元し、加溶媒分解でマクロラク톤を開環し、過ヨウ素酸で 1,2-ジオールの切断を行い、3 種のセグメントを得た。各セグメントの 1,3-ジオール部分については、アセトナイド体に誘導して Rychnovsky ルールを適用する一方、1,3,5-トリオール部分については、岸らの NMR データベースとの比較から、これらの相対配置を帰属した。アセトナイド化されてい

い2級水酸基に対して、改良 Mosher 法を適用することにより、アグリコン部の20個の不斉炭素の絶対立体配置を帰属した。残りの1,2-ジオール部分はアセトナイド体に、1,5-ジオール部分は分子内ケタール環化により6員環へ誘導し、NOESY 相関と結合定数から絶対配置を明らかとした。以上の結果により、Brasilinolide C の全絶対立体配置を明らかにした。

Brasilinolide A については、加水分解により Brasilinolide C と同一のアグリコン部と糖部が生成したことから、全絶対立体配置は Brasilinolide C と同一であると帰属した。

2) Brasilicardin B-D の構造解析

Brasilicardin B-D については、2D NMR データより相対立体配置を帰属し、糖部は標品の旋光度との比較により、アグリコン部はベンゾエート体の CD スペクトルと改良 Mosher 法により、絶対立体配置を帰属した。さらに Brasilicardin C については、X線結晶解析により立体構造を確認した。

3) Brasilicardin A の誘導体調製と活性評価

Brasilicardin A-D のアッセイ結果からは、免疫抑制活性には16位メトキシ基の存在が活性に重要であると推定している。また、Brasilicardin A については、構造活性相関、作用機構や分子標的を解明する目的で、各種誘導体を調製し、活性評価に付している。

本研究では、Brasilinolide A および C の26個の不斉炭素の全立体絶対配置を決定するという極めてチャレンジングな仕事を、忍耐力と緻密な実験で目的を達成している。また、通常の方法では困難と考えられている部位の立体化学の解析を、種々の分解・誘導化反応の導入により見事に達成している。

本研究では、微量天然有機化合物の立体化学の解明に、従来の NMR を用いる分光学的手法に加えて、分解・誘導化反応と既存の立体化学の解析法を組み合わせることの有用性を示した点で、天然物化学の分野で優れた研究成果をあげたものといえる。本研究成果は、国際学術誌にも発表されており、博士（薬学）の学位を受けるに値する業績と判断された。