


(様式 5)

指導教員 承認印	
-------------	---

2020 年 2 月 26 日
Year Month Day

学位（博士）論文要旨

(Doctoral thesis abstract)

論文提出者 (Ph. D. candidate)	工学府博士後期課程 生命工学 専攻 (major) 平成 29 年度入学(Admission year) 学籍番号 17831201 氏名 安達 栞菜 (student ID No.) (Name) (Seal)
主指導教員氏名 (Name of supervisor)	長澤 和夫
論文題目 (Title)	C11 位炭素結合型サキシトキシン誘導体の合成と活性評価 (Synthesis and evaluation of C11 substituted saxitoxin derivatives)

5 論文要旨（2000 字程度）

電位依存性ナトリウムチャネル (Nav) は、神経や筋肉などに存在する興奮性細胞における活動電位の発生と伝導に関わる重要な役割を担う膜タンパク質である。Nav には 10 種類のサブタイプ (Nav1.1~1.9, X) が存在し、フグ毒テトロドトキシン (TTX) に対する感受性の違いによって、2 つに大別される。即ち、TTX により阻害されるサブタイプ (Nav1.1~1.4, 1.6, 1.7) はテトロドトキシン感受性 (TTX-s) Nav、一方、TTX により阻害を受けにくいサブタイプ (Nav1.5, 1.8, 1.9) はテトロドトキシン抵抗性 (TTX-r) Nav に分類される。これらのサブタイプは各々がてんかんや心疾患、疼痛等の病態に密接に関連していることが知られている。そのため、Nav サブタイプ選択的な阻害剤は、サブタイプの機能やそれに関連する病態のメカニズムを明らかにするツールとして期待されており、その創製に向けた探索研究が活発に行われている。Nav やサブタイプの機能解明には、古くから TTX や貝毒サキシトキシン (STX) がそのツールとして使われてきた。TTX や STX は Nav のポア領域に結合することで、神経細胞に毒性を示すことなく細胞の脱分極のみを可逆的に阻害する。これら TTX や STX の Nav への結合能に着目し、これらの構造展開によって Nav サブタイプ選択性を発現することができれば、新規機能性リガンドを創製することが可能である。Nav サブタイプの中でも、TTX-r Nav は心筋や痛覚に関連するため、これらを選択的に阻害するリガンドの創製は、抗不整脈薬、鎮痛薬の開発にもつながる。しかしながら、現在までに、TTX-r Nav に対するサブタイプ選択的な阻害剤の報告例は少ない。一方、STX 類縁体の中で、ゼテキトキシン AB (ZTX) は STX 骨格の C11 位に硫酸エステル基と炭素炭素結合を有する複雑な構造を有しており、TTX-r Nav に対して強力な阻害活性を示す。そこで、本論文では STX 類縁体の中でも ZTX のみが有する特徴的な C11 構造に着目し、STX 骨格 C11 位に炭素炭素結合を導入した STX 誘導体の Nav 阻害活性評価を行った。その結果、

TTX-r Nav に対して強力な阻害活性を示すリガンドを 2 種類見出し、TTX-r Nav に対する選択的な阻害剤の開発の基盤を構築することができた。

また、TTX-r Nav 選択的な阻害剤の創製を志向し、ZTX の特徴的な官能基に着目した ZTX の合成研究を行った。ZTX の有する特徴的な構造の合成を検討した結果、C11 位の第三級水酸基の導入に加え、大環状部位の C11-15 位に相当する側鎖を構築することができた。これらの結果に基づき、本論文は以下の 4 章から構成されている。

第 1 章「緒言・背景」では、これまでの Nav 及び STX に関する知見と研究の歴史について説明し、本研究の目的と意義を述べた。

第 2 章「C11 位に着目したサキトキシン誘導体の合成と活性評価」では、11-benzylidene STX が強力な Nav 阻害活性を示すことに着目し、STX 骨格 C11 位の構造展開を行い、合成 STX 誘導体の活性評価を行った。その結果、6 種類の STX 誘導体の合成に成功し、合成した 6 種類の STX 誘導体はいずれも Nav 阻害活性を有しており、11-benzylidene STX 及び 11-nitrobenzylidene STX は Nav1.5 に対して強力な阻害活性を示すリガンドであることを見出した。さらに、11-fluorobenzylidene STX は Nav1.2 に対して強力かつ選択的な阻害活性を有することを見出した。この結果から、STX 骨格 C11 位炭素炭素結合が Nav サブタイプの選択性に関与している可能性が示唆された。また、合成 STX 誘導体のうち 5 つの誘導体は、Nav と不可逆的に結合していることが示唆された。この不可逆的な結合形成に関して、2019 年に Yan らが報告した Nav1.7 の三次元構造を元に、11-benzylidene STX と Nav とのドッキングを行い、C11 位ベンジリデン基が Nav 阻害活性に関与している可能性が考えられた。

第 3 章「ゼテキトキシン AB の合成研究」では、TTX-r Nav に対して強力な阻害活性を有する ZTX の特徴的な官能基である C11 位に着目し、それを基盤とした構造展開により TTX-r Nav に対する選択的な阻害剤の開発に向けた基盤構築を行った。そこでまず、ZTX に特徴的な官能基である C11 位第三級硫酸エステル基の構築法の足がかりとなる、STX 骨格 C11 位への第 3 級水酸基の導入を検討した。当研究室で開発した手法により合成した STX 骨格を有するシリルエノールエーテルに対し、Eschenmoser メチレン化反応を行い、C11 位に炭素炭素結合を有するエキソオレフィンを定量的に合成することができた。また、得られたエキソオレフィンから誘導したアリルアルコールと別途合成したニトロンの 1,3-双極子付加環化反応を検討したところ、位置及び立体選択的に反応が進行することを見出した。これにより、ZTX の C11 位と同じ立体化学を有する第三級水酸基の導入に加え、C11 位にアミノ基を含む炭素鎖を一挙に導入することができた。ついで、得られた化合物のイソキサゾリジン部位を酸化的に開裂し、官能基変換を行うことで、大環状前駆体の合成に成功した。本研究によって、ZTX の C11 位第三級硫酸エステル基の構築の基盤となる水酸基の導入に成功することができた。またこれを用いて、ZTX の構造活性相関研究の基盤構築に関わる化合物を合成することができた。今後、ZTX の有する大環状ラクタム部位を構築し、TTX-r Nav への阻害活性に重要な部位を特定することで、TTX-r Nav に対する選択的な阻害剤の開発に繋げたい。

第 4 章「結論」では、本研究を総括し、その意義について示した。

(英訳) ※和文要旨の場合(400 words)

Voltage-gated sodium channels (Nav) are transmembrane proteins that provide inward current carried by sodium ions, and they contribute to the control of membrane excitability, as well as the propagation of action potentials along axons. To date, nine subtypes of Navs have been identified, which are closely related to vital activity such as a sense of pain, a heartbeat, muscle expansion and contraction. Since each of these subtypes has unique properties, subtype selective ligand is required for controlling and elucidation of these functions.

Saxitoxin (STX) and its natural analogs are known as one of Nav inhibitors. Among its analogs, zetekitoxin AB (ZTX) shows quite potent Nav inhibitory activity against TTX-sensitive as well as TTX-resistance subtypes of Navs, which are related to several diseases such as pain and arrhythmia. ZTX has a characteristic macrocyclic lactam structure with C-C bond at C11 in STX skeleton. In this paper, we approach the development of TTX-r Nav selective modulators from two perspectives.

In chapter 2, structure-activity relationship (SAR) studies of ZTX focusing on C11, with the aim of developing TTX-r Nav selective modulators. We have successfully synthesized new STX analogs of **73b-f** bearing benzylidene substituents at C11, and their inhibitory activity of Nav were examined. As a result, 11-benzylidene STX and 11-nitrobenzylidene STX showed potent inhibitory activity against TTX-r subtype of TTX-r Nav, and may be a good lead compound for the development of TTX-r Nav selective modulators. In addition, 11-fluorobenzylidene STX showed potent and selective inhibitory activity against Nav1.2. Therefore, we found that C-C bond at C11 in STX skeleton may be involved in the Nav subtype selectivity.

Furthermore, in chapter 3, we approached TTX-r Nav selective modulators from SAR studies of the unique skeleton of ZTX, which shows potent inhibitory activity against TTX-r Nav. We suggested novel method for functionalization at C11 position using regio- and stereoselective 1,3-dipolar cycloaddition. Furthermore, we synthesized amine bearing STX skeleton including the C11 quaternary carbon, and it serves as a basis of SAR studies of ZTX skeleton.