

NATURAL PRODUCTS CHEMISTRY

Annual Research Highlights

(1) “Interaction analysis of a ladder-shaped polycyclic ether and model transmembrane peptides in lipid bilayers ”

Ladder-shaped polycyclic ethers (LSPs) are expected to interact with membrane proteins; however, the underlying mechanism has not been fully elucidated. It has been hypothesized that LSPs possess non-specific affinity to α -helical segments of transmembrane proteins. To verify the hypothesis, we constructed a model LSP interaction system in a lipid bilayer. We synthesized 5 types of α -helical peptides and reconstituted them in liposomes. The reconstitution and orientation of these peptides in the liposomes were examined using polarized attenuated total reflection infrared (ATR-IR) spectroscopy and gel filtration. The results indicated that 4 peptides were retained in liposomes, and 3 of them formed stable transmembrane structures. The interaction between the LSP and the peptides was investigated using Förster resonance energy transfer (FRET). In the lipid bilayer, a LSP, yessotoxin strongly recognized the peptides that possessed aligned hydrogen donating groups with leucine caps. We propose that this leucine-capped 16-amino acid sequence is a potential LPS binding motif.

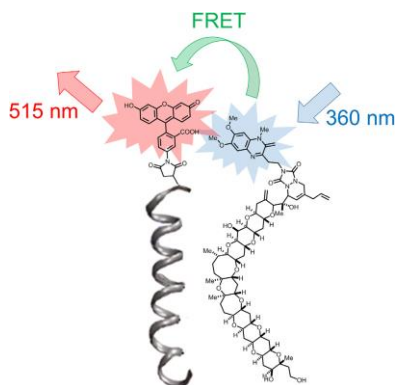


Fig. 1 Interaction analysis strategy of transmembrane model peptides and a ladder-shaped polyether, yessotoxin using Förster resonance energy transfer (FRET).

1.(1)-1) *Bioorganic Med. Chem.*, **22**, 3773-3780 (2014)

(2) “Structure-activity relationships of the truncated norzoanthamines exhibiting collagen protection toward anti-osteoporotic activity”

The marine alkaloid, norzoanthamine is a candidate drug for osteoporosis treatment. Due to its structural complexity, simplified analogues possessing similar biological activities are needed for further research. Recently, we found that the bisaminal unit, representing two-thirds of the original structure, is a bioactive equivalent. Three further truncated norzoanthamines were

synthesized and their collagen protection activities were evaluated. No analog with collagen protection activity comparable to that of the bisaminal unit was found. Thus, we confirmed the importance of the bisaminal unit for the collagen protection activity. Furthermore, we found that the recognition tolerance of the substrate collagen is relatively large by comparing both enantiomers.

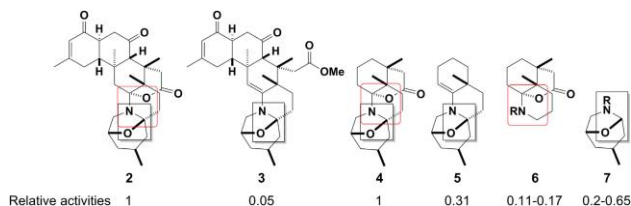


Fig. 2 Structure-activity relationships of truncated norzoanthamines.

1. (1)-3) *Bioorganic Med. Chem.*, **22**, 3455-3464 (2014)

(3) “Brevisulcatic Acids, marine ladder-frame polyethers from the red tide dinoflagellate *Karenia brevisulcata* in New Zealand ”

A new water-soluble toxin (brevisulcatic acids-4, BSX-4) was isolated from the red tide dinoflagellate *Karenia brevisulcata* which implicated in a red tide incident in 1988 in New Zealand. The structure of BSX-4 was elucidated by analysis of various NMR spectra. BSX-4 was a new polycyclic ether which had a 9 fused ether ring core, a β -hydroxy, γ -methylenevaleric acid side chain and a γ -lactone. BSX-4 have two conformational isomers at low temperature presumably originated from conformational changes of medium membered ether rings (rings D-G) in the middle of the molecule. The chemical structure deduced from NMR data was confirmed by a high energy CID MS/MS experiment using MALDI-SpiralTOF-TOF. BSX-4 showed cytotoxicity against Neuro2-A. Thus BSX-4 has structural and bioactivity similarities to brevetoxin-A.

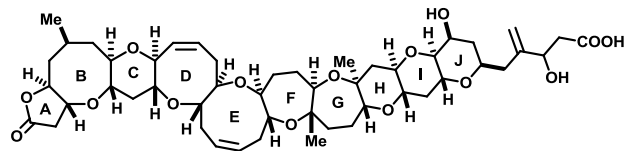


Fig. 2 Structure of brevisulcatic acids-4.

1.(1)-5) *Org. Lett.*, **16**, 5850-5853 (2014)

研究ハイライト

(1)膜貫通モデルペプチドと梯子状ポリエーテル化合物の相互作用解明

ブレベトキシンなどの梯子状ポリエーテル類は膜結合タンパク質に作用することで毒性を発現するとされる。梯子状ポリエーテル構造部分は膜蛋白質膜貫通部位の α -ヘリックス構造を特異的に認識すると想定し、これを検証するために膜貫通モデルペプチドを設計した。

これらのペプチドを薄膜水合法を用いて人工脂質二重膜に再構成した。再構成後、ゲルろ過によりペプチドが膜に保持されているかを調べた結果、親水性の高いペプチドは膜に保持されにくく、偏光ATR-IR測定では、ヘリックスの膜中で無配向であった。一方、疎水性のペプチドは一定の角度で膜中に存在した。それぞれのペプチドを蛍光標識し、これを消光する蛍光団により別途蛍光標識したイェソトキシン脱硫酸体と共にリポソーム中に再構成した。溶液中および脂質二重膜中でFRETを測定した結果、相互作用にはペプチド側鎖の水素結合供与基が重要であることが示された。

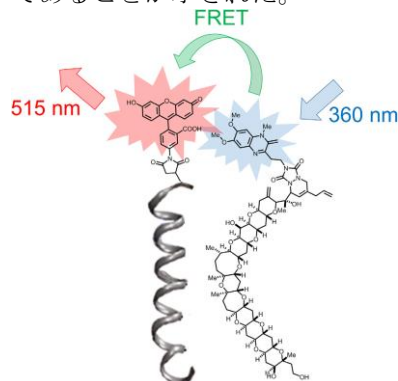


図1 モデルペプチドと梯子状ポリエーテル化合物のFRETによる相互作用解析の模式図

1. (1)-1) *Bioorganic Med. Chem.*, **22**, 3773-3780 (2014)

(2) ノルゾアンタミン簡略体の構造活性相関

ノルゾアンタミンは奄美大島産スナギンチャクから単離された天然物で、次世代の骨粗鬆症治療予防薬としての応用が期待されている。しかし自然からとれる量は非常に少なく、また全合成による供給も現実的ではない。そのため、化合物の安定供給を目的とし、天然物と同等の生物活性を持った単純化合物(簡略体)の設計と合成を行った。

研究は活性部位の探索・簡略体の設計・評価に分けて進めた。モデル化合物等を用いた実験から化合物の下半分の構造が活性に重要であることが示唆さ

れた。その観点から、重要部位を含むノルゾアンタミン簡略体を設計し、文献既知経路を改良して合成した。実際に得られた簡略体を用いて骨の重要成分であるコラーゲンの保護効果を測定したところ、簡略体(1)が天然物(2)とほぼ同等の活性を示すことがわかった。以上の結果から、下半分の構造がコラーゲン分解酵素によるコラーゲンの分解を抑制しているということが明らかとなった。

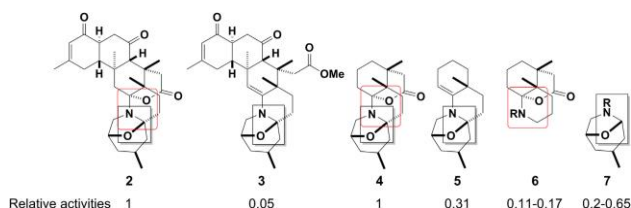


図2 ノルゾアンタミン簡略体の構造活性相関

1. (1)-3) *Bioorganic Med. Chem.*, **22**, 3455-3464 (2014)

(3) ニュージーランド赤潮渦鞭毛藻より単離された梯子状ポリエーテル化合物の構造

1998年の初頭、ニュージーランドのウェリントン湾で大規模な赤潮が発生し、湾内に生息する海洋生物の大量死が発生した。同時期に、エアロゾルが原因と思われるヒトの健康被害が500症例以上報告された。赤潮の原因種は新種の渦鞭毛藻 *Karenia brevisulcata* と同定され、その抽出液は細胞毒性やマウス致死性、魚毒性を示した。当初、ブレベトキシン類の関与が疑われたが、LC-MS分析において検出されなかったため、原因毒の解明が求められた。抽出液をクロロホルム/水分配したところ、クロロホルム層からは *brevisulcena* 類が単離され、水層からは *BSX* 類と仮称される化合物が検出された。

各種NMRスペクトルの解析により γ -ラクトンと9個のエーテル環を有するポリ環状エーテル構造を推定し、エーテル環部の相対立体構造を決定した。推定環サイズ配列は高エネルギーCID MS/MSスペクトルによって確認した。*BSX-4*は神経芽腫細胞に対する細胞毒性を示し、ブレベトキシンAと構造および生物活性に類似性を有することが明らかとなった。

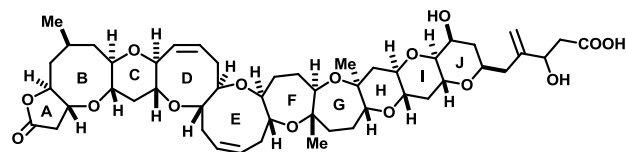


図3 Brevisulcatic acid-4 (BSX-4)の構造

1.(1)-5) *Org. Lett.*, **16**, 5850-5853 (2014)

1. 原著論文

(1) Refereed Journals

- 1) K. Yamada, H. Kuriyama, T. Hara, M. Murata, R. Irie, Y. Harntaweessup, M. Satake, S. Fukuzawa, K. Tachibana, “Interaction analysis of a ladder-shaped polycyclic ether and model transmembrane peptides in lipid bilayers by using Forster resonance energy transfer and polarized attenuated total reflection infrared spectroscopy”, *Bioorg. Med. Chem.*, **22**, 3773-3780 (2014).
- 2) H. Inoue, D. Hidaka, S. Fukuzawa, K. Tachibana, “Truncated norzoanthamine exhibiting similar collagen protection activity, toward a promising anti-osteoporotic drug”, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **24**, 508-509 (2014).
- 3) H. Inoue, K. Tokita, S. Fukuzawa, K. Tachibana, “Structure-activity relationships of the truncated norzoanthamines exhibiting collagen protection toward anti-osteoporotic activity”, *Bioorg. Med. Chem.*, **22**, 3455-3464 (2014).
- 4) T. Shirai, Y. Takimoto, T. Kuranaga, K. Tachibana, M. Satake, D. G. Baden, J. L. C. Wright, “Synthesis and cyclization of a proposed biosynthetic epoxy intermediate of a marine monocyclic ether amide, brevisamide”, *Heterocycles*, **89**, 127-142 (2014).
- 5) R. Suzuki, R. Irie, Y. Harntaweessup, K. Tachibana, P. T. Holland, T. D. Harwood, F. Shi, V. Beuzenberg, Y. Itoh, S. Pascal, P. J. B. Edwards, M. Satake, “Brevisulcatic Acids, marine ladder-frame polyethers from the red tide dinoflagellate *Karenia brevisulcata* in New Zealand”, *Org. Lett.*, **16**, 5850-5853 (2014).

2. 総説・解説

- 1) R. M. Van Wagoner, M. Satake, J. L. C. Wright, “Polyketide biosynthesis in dinoflagellate: What makes it different?”, *Nat. Prod. Rep.*, **31**, 1101-1137 (2014).