

博士論文（要約）

チオアセタールの活性化による中員環エーテルの
立体選択的合成および
ガンビエロールとその構造単純化類縁体の生物活性評価

平成 26 年度

東北大学大学院生命科学研究科
分子生命科学専攻 生命構造化学分野
菅 悠人

第1部 チオアセタールの活性化による中員環エーテルの立体選択的合成

【序論】

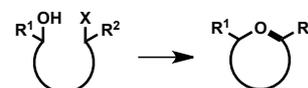
中員環エーテルは、顕著な生物活性を示す海洋天然物に見られる骨格であるが、その環形成の難しさから、効率的な構築法の開発は有機合成化学における重要な課題の一つである¹。

これまでに開発された中員環エーテル合成法は、(1) 分子内 C-O 結合形成²、(2) 分子内 C-C 結合形成³、および (3) 中員環ラク톤の官能基変換⁴、の3タイプに大別できる (Scheme 1-1)。

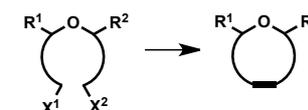
(3)のうち、Rychnovsky らが開発した、ラクトン由来の α -アセトキシエーテルに対する求核置換反応^{4c}は、容易に調製可能な中員環ラクトンから誘導できる点、また種々の求核剤を用いることで多様な中員環エーテルを合成できる点で非常に有用である (Scheme 1-2)。

しかしながら、本反応は中間体であるオキソカルベニウムイオンを生成するために化学量論量の Lewis 酸性条件を必要とすることから、複雑な構造を有する天然物の全合成に適用する場合、Lewis 酸性条件に弱い保護基の脱離など、望まない副反応を起こす危険性がある。

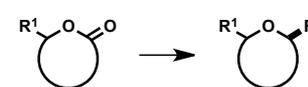
(1) intramolecular C-O bond formation



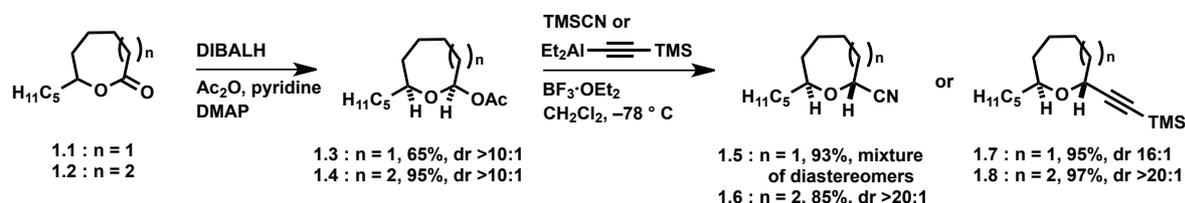
(2) intramolecular C-C bond formation



(3) lactone functionalization



Scheme 1-1

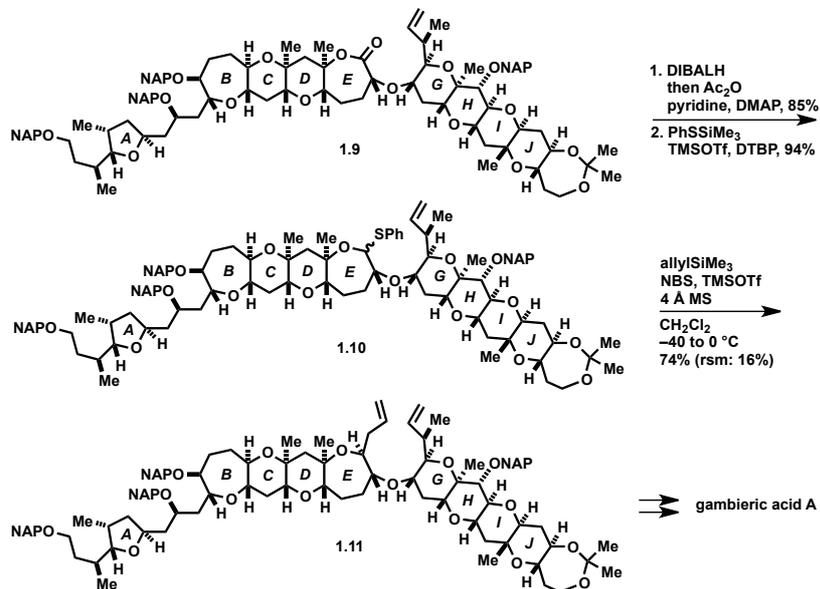


Scheme 1-2

以上の背景から筆者は、より官能基許容性の高い反応として、チオアセタールの求核置換反応に着目した。チオアセタールは、硫黄官能基を選択的に活性化することにより穏和な条件でオキソカルベニウムイオン中間体を生成できるため⁵、高度に官能基化された基質に適用が可能であると考えられる。同手法は、佐々木らのガンビエル酸 A の全合成における EF 環部構築に適用された⁶。具体的には、ラクトン **1.9** から対応する α -アセトキシエーテルへと変換し、続くチオフェニル化⁷によって誘導したチオアセタール **1.10** に対して NIS/TMSOTf を用いたアリル化反応を行い、目的のジエン **1.11** を単一の立体異性体として得た (Scheme 1-3)。

上記の例から、複雑な構造を有する天然物の合成における、ラクトン由来のチオアセタールに対する求核置換反応の有用性が強く示唆されたが、この方法論を中員環エーテルの合成に応用し

た例は極めて少なく⁸、特に 8、9 員環への適用例はまったく報告されていない。よって、チオアセタールの活性化による中員環エーテル合成法の適用範囲を検証することは、天然物合成における新たな方法論を提示する上で重要であると考えられる。



Scheme 1-3

【本論】

筆者は、種々の中員環ラクトンからチオアセタールおよびスルホンへと誘導し、求核置換反応によって多様な中員環エーテルを合成することにより、本方法論の適用範囲を検証することを目的とした研究に取り組んだ⁹。

まず、置換反応の検討を進めるため、以下に示す中員環ラクトンを出発物質とした (Figure 1-1)。標準的な 2 環性の 7-9 員環ラクトンである **1.12a-c** に加え、C3 位 (本論文では、オキソカルベニウムカチオン中間体におけるカチオン性炭素を C2 位としている) に置換基を有する中員環ラクトン **1.12d-k** を合成した。

合成した中員環ラクトン **1.12a-k** に対し、DIBALH 還元と続くワンポットでのアセチル化¹⁰を行って α -アセトキシエーテル **1.13a-k** へと変換した (Scheme 1-4)。化合物 **1.13a-k** に対して、塩基性条件下でチオフェニル基を導入してチオアセタール **1.14a-k** とした⁷。さらに、チオアセタール **1.14a-d, h** に対し *m*CPBA を作用させ、スルホン **1.15a-d, h** を得た。

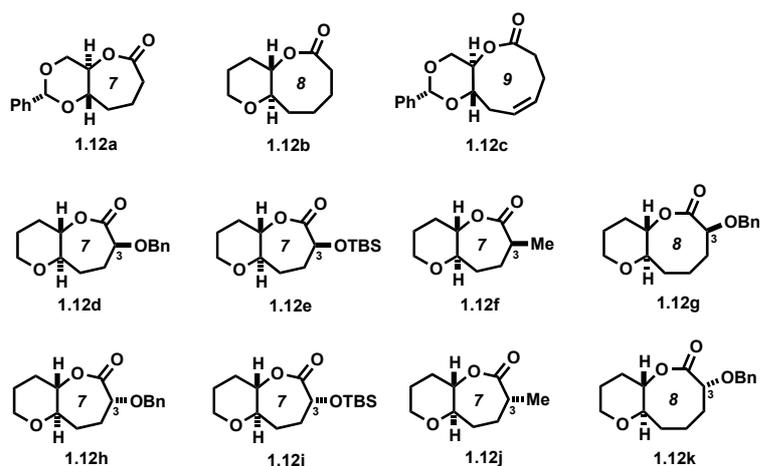
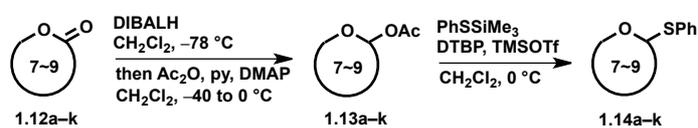
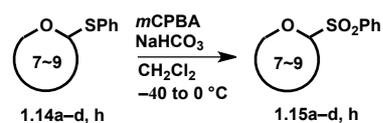


Figure 1-1

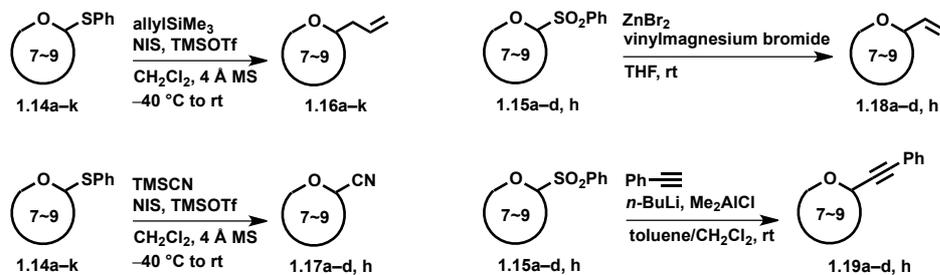


DTBP = di-*tert*-butylpyridine



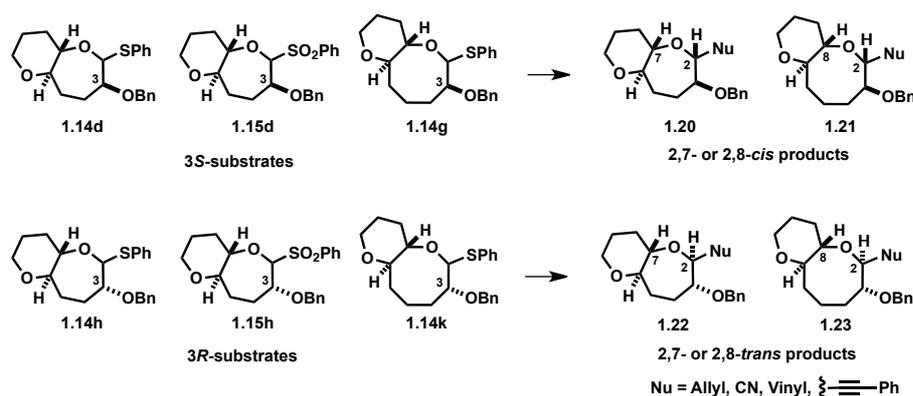
Scheme 1-4

続いて、種々の求核剤を用いた置換反応を検討した (Scheme 1-5)。まずチオアセタール **1.14a-k** に対し、平間らの報告¹¹を参考に、*N*-ヨードコハク酸イミド (NIS) と触媒量のトリフルオロメタンスルホン酸トリメチルシリル (TMSOTf) 存在下にアリルトリメチルシランまたはトリメチルシリルシアニドを作用させると、目的の中員環エーテル **1.16a-k** および **1.17a-d, h** を良好な収率で与えた。また、スルホン **1.15a-d, h** に対し有機亜鉛試薬または有機アルミニウム試薬を作用させることで^{8b}、対応する中員環エーテル **1.18a-d, h** および **1.19a-d, h** を効率よく得ることができた。



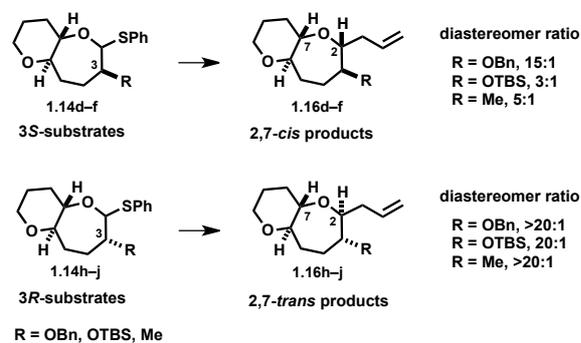
Scheme 1-5

また、アセタール炭素の隣接位（C3位）に置換基を有する基質では、C3位の立体配置が置換反応の立体選択性に大きく影響することを明らかにした（Scheme 1-6）。すなわち、C3位にベンジルオキシ基を有する基質の求核置換反応において、3*S*体の**1.14d**, **1.14g**, **1.15d**からは2,7-*cis*および2,8-*cis*体の中員環エーテル**1.20**, **1.21**が優先して得られた（ジアステレオマー比 6–18:1）。一方、3*R*体の基質**1.14h**, **1.14k**, **1.15h**からは2,7-*trans*および2,8-*trans*体の中員環エーテル**1.22**, **1.23**を主生成物として得た（ジアステレオマー比 5–20:1）。



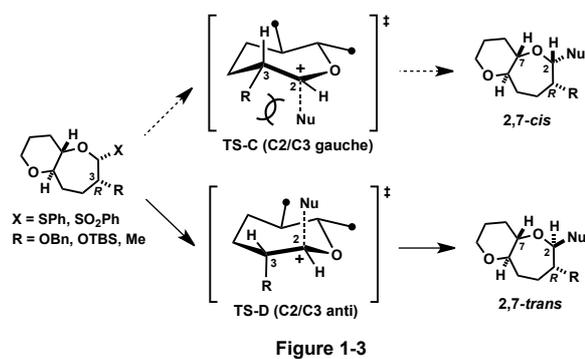
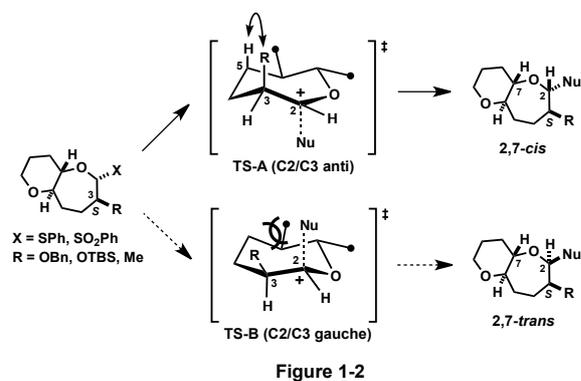
Scheme 1-6

さらに、チオアセタールに対するアリル化反応において、C3位にそれぞれベンジルオキシ基、*tert*-ブチルジメチルシリルオキシ基、メチル基を有する7員環の基質を用いた場合の結果を比較した（Scheme 1-7）。すると、3*S*体のチオアセタール**1.14d–f**から得られる2,7-*cis*体の中員環エーテル**1.16d–f**では置換基の種類によりジアステレオマー比が変化し（3–15:1）、一方3*R*体のチオアセタール**1.14h–j**を用いた場合は、置換基の種類によらずほぼ単一の立体異性体として2,7-*trans*体の中員環エーテル**1.16h–j**が得られた（ジアステレオマー比 $\geq 20:1$ ）。

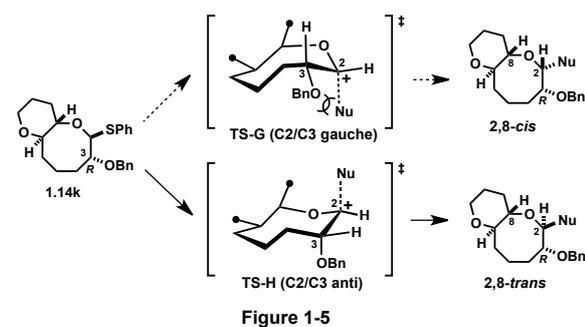
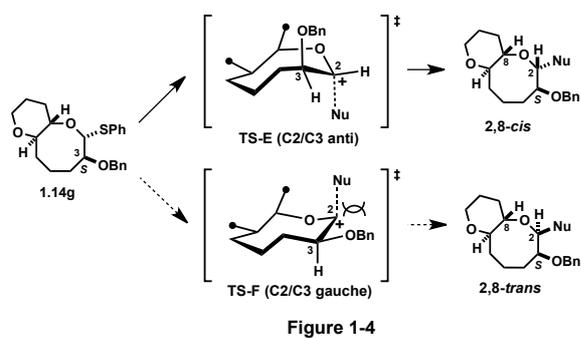


Scheme 1-7

最後に、置換反応の立体選択性について考察した。まず 3*S* の立体配置を有する 7 員環の基質を用いた求核置換反応では、**TS-A** および **TS-B** に示す 2 種の遷移状態モデルを考えた (Figure 1-2)。ここで **TS-B** では、C2 位に接近する求核剤と C3 位置換基との間にゴーシュ反発が生じるため、**TS-A** が 0.9 kcal/mol 程度有利になると考えた¹²。一方、**TS-A** では C3 位置換基が擬アキシャル配向することから、**TS-B** と比較して約 0.5 kcal/mol 不利になると考えた¹³。以上を合算すると、本反応では **TS-A** が約 0.4 kcal/mol だけ有利となるために、**TS-A** を経由して 2,7-*cis* 体を優先的に与えると結論付けた。また、**TS-A** では C3 位置換基と C5 位水素との 1,3-ジアキシャル反発が生じるため、高高い置換基を有する場合には **TS-A** のエネルギーが相対的に高くなり、ジアステレオマー比が低下するものと推測した。3*R* の立体配置を有する基質の場合も同様に、求核剤と C3 位置換基とが互いにアンチ配置となる **TS-D** を経由して 2,7-*trans* 体を優先的に与えると考えた (Figure 1-3)。

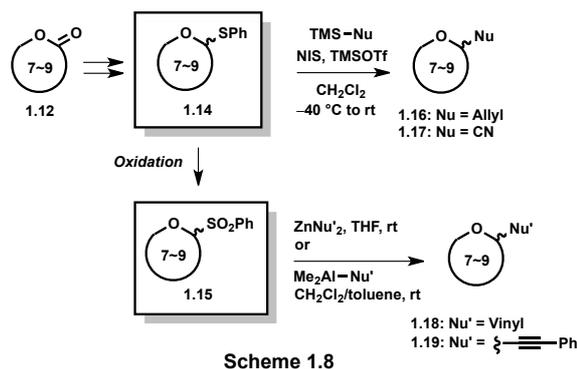


C3 位にベンジルオキシ基を有する 8 員環チオアセタールの置換反応においても、上記同様、求核剤が接近する際の立体反発により、求核剤と C3 位置換基とが互いにアンチ配置となる遷移状態を経由して反応が進行することで、立体選択性が発現したと考察した。すなわち、3*S* の立体配置を有する基質 **1.14g** からは **TS-E** を経由して 2,8-*cis* 体を、3*R* の立体配置を有する基質 **1.14k** からは **TS-H** を経由して 2,8-*trans* 体をそれぞれ優先的に与えると結論した (Figure 1-4, 1-5)。



【結論】

筆者は、中員環ラクトン **1.12** からチオアセタール **1.14** およびスルホン **1.15** へと誘導した (Scheme 1-8)。チオアセタール **1.14** に対し、NIS と触媒量の TMSOTf 存在下にアリルトリメチルシランまたはトリメチルシリルシアニドを作用させると、中員環エーテル **1.16** および **1.17**



を収率よく得ることができた。また、スルホン **1.15** に対し有機亜鉛試薬や有機アルミニウム試薬を作用させることで、対応する中員環エーテル **1.18** および **1.19** を得ることができた。

さらに、C3 位に置換基を有する基質では、C3 位の立体配置が置換反応の立体選択性に大きく影響することを見出した。この立体選択性は、遷移状態において求核剤と C3 位置換基とのゴーシュ反発を避けるため、両者がアンチ配置となる遷移状態が優先することにより発現したと考察した。

【参考文献】

- 1) Elliot, M. C. *Contemp. Org. Synth.* **1994**, *1*, 457. 2) (a) Palazón, J. M.; Martín, V. S. *Tetrahedron Lett.* **1995**, *36*, 3549. (b) Gaunt, M. J.; Yu, J.; Spencer, J. B. *J. Org. Chem.* **1998**, *63*, 4172. (c) Saitoh, T.; Suzuki, T.; Onodera, N.; Sekiguchi, H.; Hagiwara, H.; Hoshi, T. *Tetrahedron Lett.* **2003**, *44*, 2709. 3) (a) Bratz, M.; Bullock, W. H.; Overman, L. E.; Takemoto, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1995**, *117*, 5958. (b) Yamada, J.; Asano, T.; Kadota, I.; Yamamoto, Y. *J. Org. Chem.* **1990**, *55*, 6066. (c) Inanaga, J.; Yokoyama, Y.; Handa, Y.; Yamaguchi, M. *Tetrahedron Lett.* **1991**, *32*, 6371. (d) Inoue, M.; Sasaki, M.; Tachibana, K. *Tetrahedron Lett.* **1997**, *38*, 1611. (e) Oishi, T.; Nagumo, Y.; Hirama, M. *Chem. Commun.* **1998**, 1041. 4) (a) Tsushima, K.; Murai, A. *Chem. Lett.* **1989**, 1313. (b) Nicolaou, K. C.; McGarry, D. G.; Somers, P. K.; Kim, B. H.; Ogilvie, W. W.; Yiannikouros, G.; Prasad, C. V. C.; Veale, C. A.; Hark, R. R. *J. Am. Chem. Soc.* **1990**, *112*, 6263. (c) Rychnovsky, S. D.; Dahanukar, V. H. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 7648. (d) Sasaki, M.; Fuwa, H.; Inoue, M.; Tachibana, K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 9027. (e) Sasaki, M.; Ishikawa, M.; Fuwa, H.; Tachibana, K. *Tetrahedron* **2002**, *58*, 1889. 5) (a) Zuurmond, H.; Van der Laan, S. C.; Van der Marel, G. A.; Van Boom, J. H. *Carbohydr. Res.* **1991**, *215*, C1. (b) Smid, P.; De Ruitar, G. A.; Van der Marel, G. A.; Rombouts, F. M.; Van Boom, J. H. *J. Carbohydr. Chem.* **1991**, *10*, 833. 6) (a) Fuwa, H.; Ishigai, K.; Hashizume, K.; Sasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 11984. (b) Ishigai, K.; Fuwa, H.; Hashizume, K.; Fukazawa, R.; Cho, Y.; Yotsu-Yamashita, M.; Sasaki, M. *Chem. Eur. J.* **2013**, *19*, 5276. 7) Nambiar, S.; Daeuble, J. F.; Doyle, R. J.; Taylor, K. G. *Tetrahedron Lett.* **1989**, *30*, 2179. 8) (a) Kobayashi, S.; Hori, M.; Hirama, M. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 443. (b) Gurjar, M. K.; Rao, B. V.; Krishna, L. M.; Chorghade, M. S.; Ley, S. V. *Tetrahedron: Asymmetry* **2005**, *16*, 935. 9) Suga, Y.; Fuwa, H.; Sasaki, M. *J. Org. Chem.* **2014**, *79*, 1656. 10) Dahanukar, V. H.; Rychnovsky, S. D. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 8317. 11) Kobayashi, S.; Hori, M.; Hirama, M. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343*, 443. 12) Ayala, L.; Lucero, C. G.; Romero, J. A. C.; Tabacco, S. A.; Woerpel, K. A. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15521. 13) Hendrickson, J. B. *J. Am. Chem. Soc.* **1967**, *89*, 7043.

第2部 ガンビエロールとその構造単純化類縁体の生物活性評価

【序論】

ガンビエロールは、食中毒シガテラの原因となる有毒渦鞭毛藻 *Gambierdiscus toxicus* から単離・構造決定された海洋ポリ環状エーテル天然物である¹。ガンビエロールはマウスに対し顕著な致死毒性を示すほか、極低濃度で電位依存性カリウムイオンチャネル (K_V チャネル) をサブタイプ選択的に阻害する²。当グループではガンビエロールの最初の全合成を達成し³、マウス致死毒性を指標とした構造活性相関研究を行った⁴。その結果、ガンビエロールの強力な毒性発現には分子右側の構造が必須であることが明らかとされた。

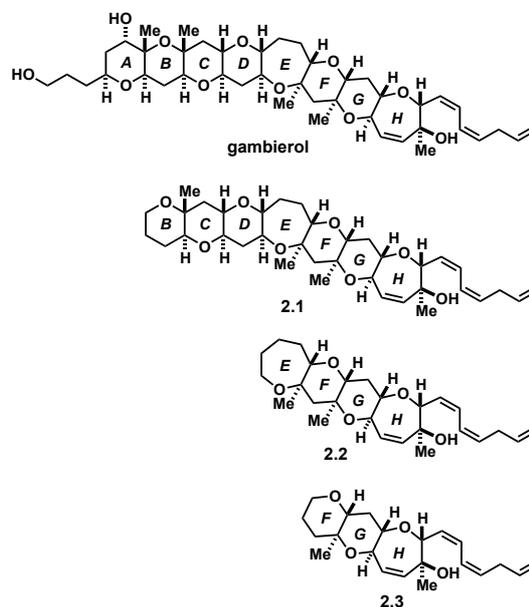


Figure 2-1

当グループは、現在までにガンビエロールの分子左側の構造を単純化した 7 環性類縁体 **2.1**⁵、4 環性類縁体 **2.2**⁵、3 環性類縁体 **2.3** を設計・合成している (Figure 2-1)。また、マウス由来の小脳顆粒細胞を用いた電気生理実験 (ホールセル記録) により、**2.1** と **2.2** はいずれも強力な電位依存性カリウムイオン電流阻害活性を保持していることが明らかとなった⁶。さらに、7 環性類縁体 **2.1** のみが、同細胞に対する細胞増殖抑制活性を示すことを見出した。

これまでポリ環状エーテル天然物においては、ポリ環状エーテル骨格の分子長が強力な活性発現に重要であると考えられてきた⁷。そのため、ガンビエロールのポリ環状エーテル骨格の長さを半分まで短縮した 4 環性類縁体 **2.2** が電位依存性カリウムイオン電流の阻害活性を示すという知見は、既存の概念を覆す実験事実であり、ポリ環状エーテル天然物の活性発現機構の理解のための新たな手がかりとなりうる。

一方で、ガンビエロール構造単純化類縁体の生物活性に関しては、構造単純化類縁体 **2.1** および **2.2** がガンビエロールと同様の K_V チャネルサブタイプを選択的に阻害するかどうか、またなぜ 7 環性類縁体 **2.1** が天然物よりも強い細胞増殖抑制活性を有するのか、さらに 3 環性類縁体 **2.3** が電位依存性カリウムイオン電流阻害活性を始めとした生物活性を有しているかどうか等、解明すべき課題が多く残されている。

【本論】

ガンビエロール構造単純化類縁体 **2.1** および **2.2** は、マウス由来の小脳顆粒細胞を用いた電気生理実験の結果から、いずれも強力な電位依存性カリウムイオン電流阻害活性を保持していることが明らかとなっている⁶。しかし、小脳顆粒細胞は種々のタイプのカリウムイオンチャネルを有しているため⁸、類縁体 **2.1** および **2.2** が、ガンビエロールと同様の K_v チャネルサブタイプを阻害するかどうかは不明であった。また、ガンビエロール3環性類縁体 **2.3** のカリウムイオン電流阻害活性に関する知見はこれまでに得られていない。そこで筆者は、ヒト胎児由来腎細胞 (HEK293T 細胞) およびチャイニーズハムスター卵巣細胞 (CHO 細胞) に対し、 K_v1 シリーズの中でも特にガンビエロールとの親和性が高い $K_v1.2$ チャネル^{2b} を過剰発現させ、ガンビエロールおよび構造単純化類縁体 **2.1–2.3** の生物活性評価を行った⁹。

まず、パッチクランプ法¹⁰を用いた電気生理実験により、ガンビエロールおよび構造単純化類縁体 **2.1–2.3** の $K_v1.2$ チャネル阻害活性を評価することとした。すでに調製した $K_v1.2$ チャネル過剰発現細胞を用い、 K_v PharmP4leak プロトコルを用いたオートパッチ測定により、膜電位 40 mV のパルス電圧にて電位依存性カリウムイオン電流を測定した後、ガンビエロールおよび構造単純化類縁体 **2.1–2.3** の添加による電流値の推移を記録した。

上記の実験をそれぞれの化合物に対して 3 回ずつ実施して再現性を確認し、得られた結果をもとに、各細胞および各化合物について、電位依存性カリウムイオン電流の阻害における濃度依存曲線を作成した。HEK293T 細胞を用いた場合 (Figure 2-2) では、 IC_{50} 値はそれぞれ、ガンビエロール: 0.81 ± 0.16 nM、**2.1**: 20 ± 1.9 nM、**2.2**: 54 ± 17 nM、**2.3**: >1000 nM となった。また、CHO 細胞を用いた場合 (Figure 2-3) ではガンビエロール: 0.75 ± 0.15 nM、**2.1**: 7.6 ± 1.2 nM、**2.2**: 28 ± 4.0 nM、**2.3**: >1000 nM と算出された。

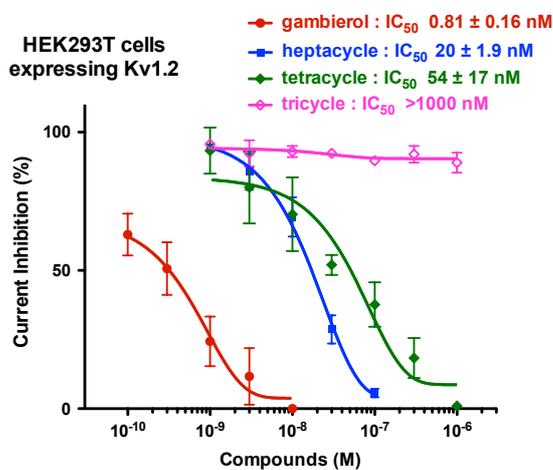


Figure 2-2

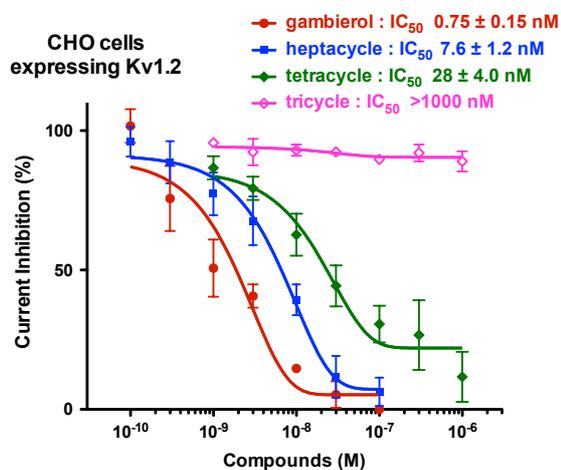


Figure 2-3

これらの結果から、ガンビエロールおよび構造単純化類縁体 **2.1**, **2.2** は、K_v1.2 チャンネルに対し強力な阻害活性を有することが示されたが、その強さはガンビエロール>**2.1**>**2.2** の順となり、Botana らが報告した、マウス由来の小脳顆粒細胞に対する電位依存性カリウムイオン電流阻害活性の強さの順 (**2.1**>ガンビエロール>**2.2**)⁶ とは一致しなかった。これは、Botana らが用いた小脳顆粒細胞では、K_v3.1 チャンネルや K_v4.2 チャンネル等が発現している^{8b}ためと考えた。すなわち、ガンビエロールおよび7環性類縁体 **2.1** では、K_v チャンネルのサブタイプに対する相対的な阻害活性が異なることが示唆された。

また、4環性類縁体 **2.2** は、小脳顆粒細胞を用いた場合 (IC₅₀ 値 190 nM)⁶ と比較して、K_v1.2 チャンネル過剰発現細胞系を用いた場合の方がより強い電位依存性カリウムイオン電流阻害活性を示した。序論でも述べたように、これまでポリ環状エーテル天然物においてはその巨大な分子骨格が強力な活性発現に重要であると考えられていた⁷。そのため、本研究により4環性類縁体 **2.2** が単一の K_v チャンネルを強力に阻害する実験事実を示したことは、ポリ環状エーテル天然物の活性発現機構解明のための手がかりとして重要な知見と位置づけられる。

一方、3環性類縁体 **2.3** の投与は高濃度においても電位依存性カリウムイオン電流値に影響を与えなかった。このことから、ガンビエロールの K_v1.2 チャンネル阻害における最小活性構造単位は4環性類縁体 **2.2** の構造を含むものと考えられ、一定以上の長さの分子骨格を有していることが K_v1.2 チャンネルの阻害に重要であることが示唆された。

続いて、ガンビエロールおよびその構造単純化類縁体 **2.1**, **2.2** の細胞増殖抑制活性を評価した。Botana らは、小脳顆粒細胞に対する細胞増殖抑制活性評価により、ガンビエロールおよびその構造単純化類縁体 **2.1**, **2.2** のうち7環性類縁体 **2.1** のみが細胞増殖抑制活性を示すことを報告している (IC₅₀ 値 26.7 nM)⁶ が、この結果を説明するための知見は得られていない。そこで筆者は、HEK293T 細胞と CHO 細胞について、K_v1.2 チャンネルを過剰発現させた細胞および野生型の細胞を用いた増殖抑制試験により、ガンビエロールおよび類縁体 **2.1**, **2.2** の K_v チャンネル阻害活性と細胞増殖抑制活性との相関を検証することとした。

まず、K_v1.2 チャンネルを過剰発現させた HEK293T 細胞に対し、各化合物の投与による細胞増殖抑制について評価した (Figure 2-4)。その結果、7環性類縁体 **2.1** が中程度の細胞増殖抑制活性を示し (IC₅₀ 値 2.2 ± 0.9 μM)、ガンビエロール (IC₅₀ 値 41 ± 6.3 μM) および4環性類縁体 **2.2** (IC₅₀ 値 47 ± 7.2 μM) ではその増殖抑制活性は **2.1** の 1/20 程度であった。野生型の HEK293T 細胞に対

する増殖抑制活性評価も実施したが (Figure 2-5)、いずれの化合物においても、Figure 2-4 の結果とほぼ同等の増殖阻害を示した。CHO 細胞に対しても同様の実験を行ったが、HEK293T 細胞に比べて各化合物に対する感受性がやや低いことが示唆されたものの、K_v1.2 チャンネル過剰発現細胞および野生型の細胞において有意な差は見られなかった (Figure 2-6, 2-7)。

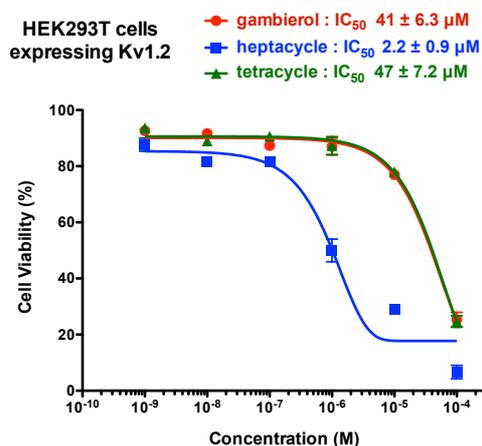


Figure 2-4

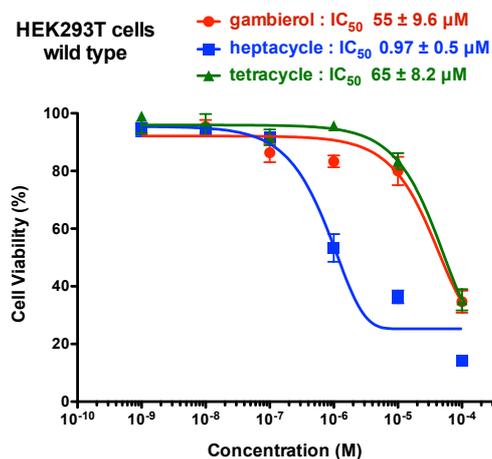


Figure 2-5

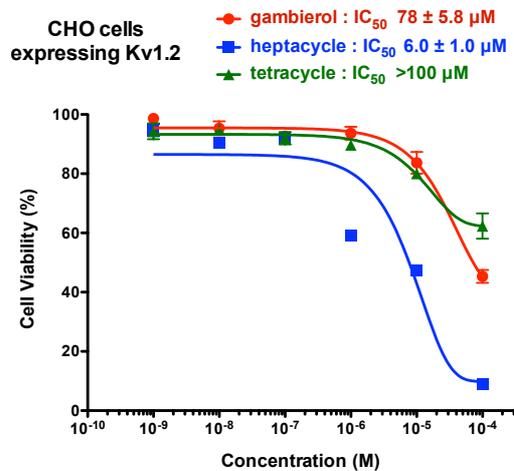


Figure 2-6

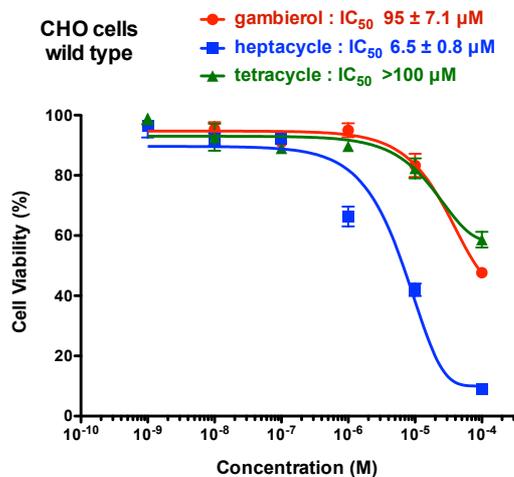


Figure 2-7

以上の結果から、ガンビエロールおよび構造単純化類縁体の細胞増殖抑制活性の強さは、7 環性類縁体 **2.1** > ガンビエロール ≧ 4 環性類縁体 **2.2** であり、電気生理実験における各化合物の K_v1.2 チャンネル阻害活性の強さとは相関しないことが明らかとなった。また、K_v1.2 チャンネルを過剰発現させた細胞と、K_v チャンネル発現量が非常に少ない野生型の細胞を比較して、両細胞が各化合物に対して同等の感受性を示したことから、細胞増殖抑制活性が K_v チャンネルの阻害によって引き起こされている可能性は低いと考えられた。すなわち、7 環性類縁体 **2.1** が天然物ガンビエロールよりも

強い細胞増殖抑制を示す要因として、**2.1** が培養細胞に対し、電位依存性カリウムイオン電流阻害以外に何らかの作用を及ぼしている可能性が示唆された。

そこで筆者は、K_v1.2 チャンネルを過剰発現させた CHO 細胞を用いた電気生理実験において、高濃度 (100 nM 以上) の化合物 **2.1** を添加した場合に、細胞のリーク電流値が増大する点に着目した。海洋ポリ環状エーテル天然物がリーク電流を誘発する例は、これまでも複数報告されている¹¹。筆者は、ガンビエロールおよび類縁体 **2.1**, **2.2** に対し、K_v1.2 チャンネル過剰発現 CHO 細胞を用いた電気生理実験 (ホールセル記録) における、各化合物の添加によるリーク電流値の濃度依存的な推移を調べた (Figure 2-8)。

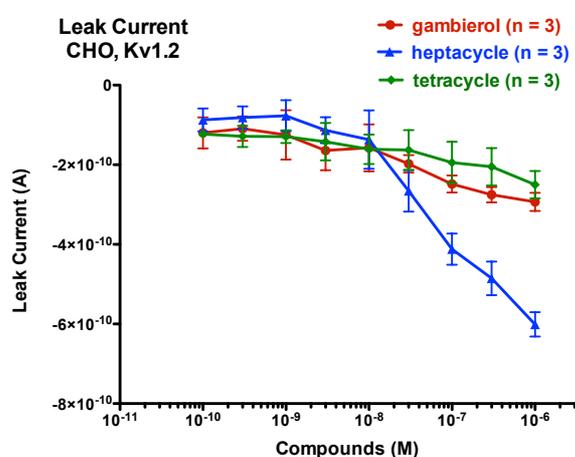


Figure 2-8

リーク電流値の増大は、高濃度のガンビエロールや4環性類縁体 **2.2** の添加においてもわずかながら観測されたが、高濃度の7環性類縁体 **2.1** の投与時には濃度依存的にリーク電流が増大した (100 nM で 0.4 nA 以上、1000 nM で 0.6 nA 程度)。この結果について筆者は、7環性類縁体 **2.1** の構造に関し、分子左側に親水性官能基を有しておらず分子全体として疎水性が高くなっている点、また7つのエーテル環が連続的に縮環した巨大な分子構造を有している点、以上の2点が鍵となって細胞膜と相互作用し、リーク電流を誘発しているのではないかと推測した。また、培養培地中でも **2.1** が同様に細胞膜に作用することで細胞増殖抑制活性を発現している可能性も考えられるが、現在までにこの仮説を支持する実験事実を得ることはできておらず、活性発現機構に関する問題提起をするに留まった。しかしながら、筆者がこれまでに得た知見は、ガンビエロールの構造単純化類縁体 **2.1** に特徴的な、K_v チャンネルの阻害とは異なる機構による細胞増殖抑制活性の発現メカニズムの解明に向けた研究を進める上での基礎的データとして位置づけられる。

【結論】

筆者は、K_v1.2 チャネルを過剰発現させた HEK293T 細胞および CHO 細胞を用いた電気生理実験（ホールセル記録）を行い、ガンビエロールおよび構造単純化類縁体 **2.1–2.3** の K_v1.2 チャネル阻害活性を評価した。その結果、ガンビエロール、7 環性類縁体 **2.1**、4 環性類縁体 **2.2** はいずれも強い K_v1.2 チャネル阻害活性を示し、3 環性類縁体 **2.3** は高濃度でも K_v1.2 チャネル阻害活性を示さないことがわかった（K_v1.2 チャネル過剰発現 CHO 細胞を使用、IC₅₀ 値: ガンビエロール, 0.75 ± 0.15 nM; **2.1**, 7.6 ± 1.2 nM; **2.2**, 28 ± 4.0 nM; **2.3**, >1000 nM）。

また、K_v1.2 チャネルを過剰発現させた HEK293T 細胞、CHO 細胞、およびそれらの野生型細胞の生育培地中にガンビエロールおよび構造単純化類縁体を投与しその増殖抑制活性を評価した。その結果、化合物 **2.1** がいずれの細胞に対しても最も強い増殖抑制活性（IC₅₀ 値: 0.97–6.5 mM）を示した。以上の結果から、**2.1** が培養細胞に対し、K_v1.2 チャネルの阻害以外に何らかの作用を及ぼしている可能性が示唆された。一方、高濃度の **2.1** は電気生理実験における細胞のリーク電流を増大させた（100 nM で 0.4 nA 以上）。以上の実験結果から筆者は、7 環性類縁体 **2.1** に特徴的な細胞増殖抑制活性の発現機構の解明に向けた研究を進める上での基礎データを得ることができた。

【参考文献】

- 1) Satake, M.; Murata, M.; Yasumoto, T. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 361. 2) (a) Ghiaroni, V.; Sasaki, M.; Fuwa, H.; Rossini, G. P.; Scalera, G.; Yasumoto, T.; Pietra, P.; Biginani, A. *Toxicol. Sci.* **2005**, *85*, 657. (b) Cuypers, E.; Abdel-Mottaleb, Y.; Kopljar, I.; Rainier, J. D.; Raes, A. L.; Snyders, D. J.; Tytgat, J. *Toxicol.* **2008**, *51*, 974. (c) Kopljar, I.; Labro, A. J.; Cuypers, E.; Johnson, H. W. B.; Rainier, J. D.; Tytgat, J.; Snyders, D. J. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* **2009**, *106*, 9896. 3) (a) Fuwa, H.; Sasaki, M.; Tachibana, K. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2981. (b) Fuwa, H.; Kaunuma, N.; Tachibana, K.; Sasaki, M. *J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14983. 4) Fuwa, H.; Kainuma, N.; Tachibana, K.; Tsukano, C.; Satake, M.; Sasaki, M. *Chem. Eur. J.* **2004**, *10*, 4894. 5) Alonso, E.; Fuwa, H.; Vale, C.; Suga, Y.; Goto, T.; Konno, Y.; Sasaki, M.; LaFerla, F. M.; Vieytes, M. R.; Giménez-Llort, L.; Botana, L. M. *J. Am. Chem. Soc.* **2012**, *134*, 7467. 6) Pérez, S.; Vale, C.; Alonso, E.; Fuwa, H.; Sasaki, M.; Konno, Y.; Goto, T.; Suga, Y.; Vieytes, M. R.; Botana, L. M. *Chem. Res. Toxicol.* **2012**, *25*, 1929. 7) (a) Inoue, M.; Hiramata, M.; Satake, M.; Sugiyama, K.; Yasumoto, T. *Toxicol.* **2003**, *41*, 469. (b) Gawley, R. E.; Rein, K. S.; Jeglitsch, G.; Adams, D. J.; Theodorakis, E. A.; Tiebes, J.; Nicolaou, K. C.; Baden, D. G. *Chem. Biol.* **1995**, *2*, 533. 8) (a) Serodio, P.; Rudy, B. *J. Neurophysiol.* **1998**, *179*, 1081. (b) Shibata, R.; Watazono, Y.; Nakahira, K.; Trimmer, J. S.; Ikennaka, K. *Dev. Neurosci.* **1999**, *21*, 87. 9) Konoki, K.; Suga, Y.; Fuwa, H.; Yotsu-Yamashita, M.; Sasaki, M. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2015**, *25*, 514. 10) (a) Neher, E.; Sakmann, B. *Nature* **1976**, *260*, 779. (b) Neher, E.; Sakmann, B. *J. Physiol. (Lond.)* **1976**, *258*, 705. 11) (a) Strachan, L. C.; Lewis, R. J.; Nicholson, G. M. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* **1999**, *288*, 379. (b) Yamaoka, K.; Inoue, M.; Miyazaki, K.; Hiramata, M.; Kondo, C.; Kinoshita, E.; Miyoshi, H.; Seyama, I. *J. Biol. Chem.* **2009**, *284*, 7597.