

審 査 の 結 果 の 要 旨

氏 名 和田 直樹

本論文は「結晶スポンジ法による天然物化学研究のワークフロー刷新」と題し、以下の5章から構成され、結晶スポンジ(Crystalline Sponge; CS)法を天然化合物の構造解析ワークフローに導入することによって従来よりも迅速かつ容易に確度高い構造解析が実現されることを論じている。

第1章では、本研究の背景として天然物化学における構造解析、CS法の原理、これまでに報告されたCS法の天然物化学への応用例について論じたあと、本研究の目的、概要を述べた。

第2章では、必要試料量を大幅に減少させる天然物構造決定の新たなワークフローを確立するため、単離精製・構造解析に先立ち抽出エキス中の各成分とCS錯体との親和性を確認することでCS法により構造解析できる天然物、および適切な包接条件を効率的に判別する手法（以降、この操作を「CS法適合性スクリーニング」と称する）を考案した。そして、このワークフローに基づき、実際に共同研究者から提供を受けた紅藻 *Laurencia pacifica* の抽出エキス約 10 mg に含まれる 6 成分の構造決定を行なった。抽出エキスに含まれる成分をクロマトグラフィーによって分取精製したのち、核磁気共鳴(NMR)分光法と質量分析法を併用してCS法による構造解析を行い、6成分すべての天然物の絶対構造を得た。このうち 3 個の絶対配置は先行研究で誘導体から推測されているに過ぎなかったが、本研究ではこれらについて初めて絶対構造を得た。先行研究では g スケールの抽出エキスから構造解析が始まっていたことを踏まえれば、約 10 mg の抽出エキスから構造決定を達成したことで少なくとも従来より 100 分の 1 のスケールダウン効果を主張できたことになる。また、従来であれば数年の歳月を要した天然物単離抽出の研究をわずか数ヶ月で完遂した。

第3章では、特定の天然物群、特にステロイドをターゲットとしてCS法の適用範囲拡張を実現した。また、ステロイドの構造解析ワークフローにCS法を導入し、迅速かつ確度高い構造解析を実施した。ステロイドは構造多様性と各種生理活性を示す天然物の一種であるが、複数の不斉点があるなど化学構造が複雑であるため、その正確な構造決定は困難を伴う。CS法はステロイドの構造解析

ワークフローを改善することが期待されたものの、モデルとして用いたステロイド化合物 cholesterol は CS 細孔内でディスオーダーを示し当初信頼性の高い構造解析結果を与えなかった。本研究では、改めて試料調製条件を再検討し、従来 CS 法に不向きとされていた極性溶媒（アセトン、ブタノン等）がゲスト化合物の CS 錯体内でのオーダーを促進することを見出した。さらに、極性溶媒を活用した CS 法によって、互いに構造の似通った 3 個の hydroxycholesterol 異性体や、実際に天然物化学研究で得られた未知ステロイド化合物の立体配置解析を効果的に達成した。

第 4 章では、天然物化学の最先端分野である遺伝子情報に基づく生合成研究において、CS 法を構造解析における第一選択手法として採用し、新規非結晶性天然物の構造解析を迅速に達成した。近年の遺伝子解析技術の発展は、天然物化学における生合成酵素の探索と発見を容易にした。一方で、生合成酵素産物の構造解析には多量のサンプルを要する NMR 分光法や限定的な構造情報しか与えない質量分析法が依然主として用いられているため、生合成研究において酵素産物の構造解析が困難となる場合も多くある。前述した紅藻 *L. pacifica* に由来する mRNA 配列より取得したテルペン環化酵素 LphTPS-C は、出芽酵母を用いた異種発現系において微量の未知テルペノイド X を産生した。X は取得量がわずか、非結晶性、揮発性といった性質から、CS 法における構造解析が最適と判断された。X を単離精製したのち CS 法による構造解析を行ったところ、新規化合物 haraldol の化学構造が見出された。NMR で構造解析を行うと、CS 法の結果と矛盾しない平面構造が得られた。NOESY NMR スペクトル測定においては試料量が僅かであったため立体配置解析を行うために十分なシグナル強度が得られなかった。従来の生合成研究のワークフローでは化合物の立体配置解析を行うには NOESY NMR スペクトルの取得は必須であったが、本研究では既に CS 法で絶対配置を決定できていることから、これはもはや問題とはならなかった。また、NMR 解析の最中に偶然生じた分解物の化学構造もわずか 0.1 mg の試料から決定できた。

第 5 章では本研究を総括した。本博士論文では、単離精製に先立ち化合物の CS 法適合性を評価する実験系の構築、CS 法の適用範囲拡張を実現した。さらに、天然物化学の最先端トピックである遺伝子情報に基づく生合成研究を CS 法の活用を前提として行い、従来よりも効率的に化合物の構造解析を行なった。これらの実証実験を通じ、本研究は CS 法が天然物化学の新たなワークフロー確立に有効であることを明らかにした。本研究で提唱したワークフローは、天然物化学と問題を同じくする医薬品化学における化合物構造解析への応用が期待される。

よって本論文は博士（工学）の学位請求論文として合格と認められる。