

## 山梨県若手研究者奨励事業 研究成果概要書

所属機関名

山梨大学

職名・氏名

特任助教・佐藤玄 ㊞

## 1 研究テーマ

計算化学・有機合成化学・生化学を基軸とした天然物化学研究

## 2 研究の目的

新しい分子構造を持つ天然物有機化合物の発見は、医薬資源や新規材料の開発に直結する。本研究課題では、計算化学・有機化学・生化学を 3 本の柱とし、新しい天然物有機化合物の効率的な探索・供給・合成方法の確立を目指す。

## 3 研究の方法

天然物有機化学は、植物や微生物の生体内で、“酵素”という触媒によって合成される。本研究課題では、計算化学（コンピューターシミュレーション）により、酵素の触媒メカニズムを明らかにし、生化学・有機合成実験により人為的にこの酵素を改変することにより、新規の天然物有機化合物を作り出すことを目的とする。

## 4 研究の成果

今年度は、Scalarane 型セスタテルペノイドの生合成経路の解明とジテルペン化合物 Spiroalbatene の生合成反応機構の解析に取り組んだ。

Scalarane 型セスタテルペノイドでは、ステロイド骨格から環の開裂が進行し、環拡大・縮小反応が進行するという予想反応機構が提唱されていた。DFT 計算を用いて詳細に解析を行ったところ、遠隔位にある Me 基が活性化エネルギーの制御と協奏性の制御に重要であることが分かった。この部分の Me 基を消去すると、カルボカチオン中間体が不安定となり活性化エネルギーが非常に高くなることが明らかとなった。その一方で、反応全体は協奏反応になることが明らかとなった。一方で、この Me 基を Pr 基へと変換すると、活性化エネルギーが低下することが明らかとなった。scalarane 型セスタテルペノイドのテルペン環化酵素は、基質の有する Me 基をもとに反応性を制御していることを示唆する結果が得られた。今後は、この Me 基の固定に関与している酵素のアミノ酸残基を明らかにし、酵素機能変換へと繋げていく予定である。

## 留意事項

① 3 枚程度で作成してください。

② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

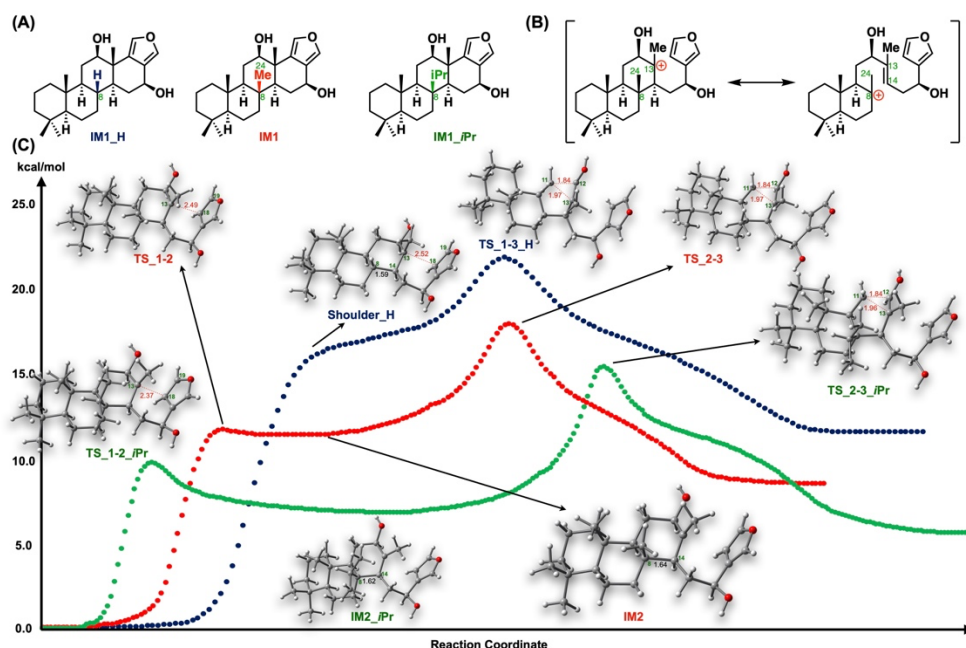


図 1. Scalarane 型セスタテルペンの環拡大反応の検討

spiroalbatene 生合成について、DFT 計算を用いて反応機構解析を行い、当初の予想生合成経路とは異なる 3 つの新たな知見を得ることに成功した。

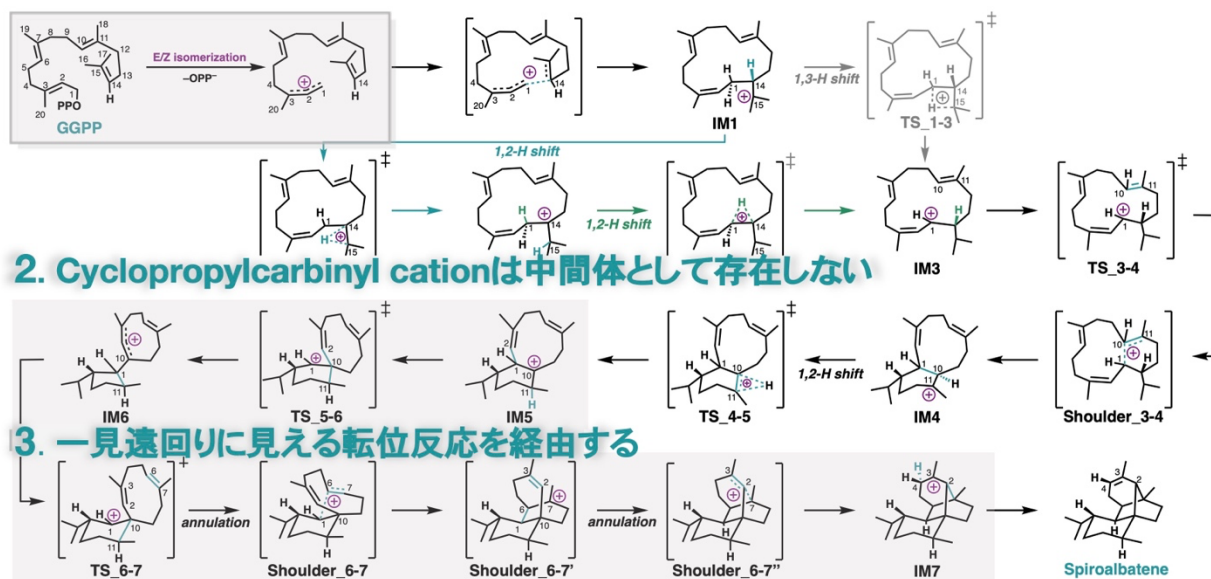


図 2. Spiroalbatene 生合成の反応機構解析結果

まず 1 つ目の新たに得られた知見は、spiroalbatene 生合成では反応の初期過程において E/Z 異性化が進行することである。E 体のまま反応が進行すると  $\mu$ -hydrogen bridged cycloalkonium cation という非古典的カチオン種が生じてしまい、最終生成物まで反応が進行しないということが明らかとなった。テルペン 環化酵素では、E/Z 異性化が進行することは非常に稀ではあるが、これまでも報告例がある。今後は、MD 計算など

#### 留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。

も取り入れて、酵素がどのようにして *E/Z* 異性化を制御しているのかを明らかにしていきたいと考えている。2 つ目の知見としては、cyclopropylcarbinyll cation という非古典的カチオン種の存在が提唱されていたが、各種計算結果により、cyclopropylcarbinyll cation が中間体として存在し得ないことを明らかにした。さらに、これまでに cyclopropylcarbinyll cation が報告されている asperterpenol, trichobrasilenol, cyclooctatin, verrucosane などとも比較することにより、カルボカチオンとシクロプロパン環の向きが重要であることを明らかにした。さらに、3 つ目の知見としては、より合理的な転位反応の反応機構を発見したことである。一見遠回りに見える反応機構が得られたが、NBO 計算などを駆使して軌道相互作用を見積もったところ、カルボカチオンの空軌道の方向を回転させるために必要な過程であることが明らかとなった。上記の研究で得られた知見をもとに、さらに研究を継続していき、酵素の機能改変による新規天然物の創出を行っていく予定である。

## 5 今後の展望

現在、タンパク質モデリングソフトウェア Rosetta と Deep Learning を組み合わせた RFDiffusion を利用することにより、酵素機能のリデザインに取り組んでいる。今後は、生化学実験による変異体酵素の機能評価を行い、新たな天然物化合物の創出に取り組んでいきたいと考えている。

## 6 研究成果の発信方法（予定を含む）

論文発表：

1. Concertedness and Activation Energy Control by Distal Methyl Group during Ring Contraction/ Expansion in Scalarane-type Sesterterpenoid Biosynthesis. Hajime Sato,\* Moe Nakano *Chem. Eur. J.*, **2022**, 29, e202203076. DOI: 10.1002/chem.202203076

学会発表：

1. 第12回 CSJ 化学フェスタ 2022 ポスター発表 P4-058 「Spiroalbatene 生合成におけるカルボカチオン転移反応の理論解析」 ○中野 萌恵・内山 真伸・佐藤 玄
2. 日本農芸化学会 2023 年度大会 口頭発表 1E06-08 「Spiroalbatene 生合成におけるカルボカチオン転移反応の理論解析」 ○中野 萌恵・内山 真伸・佐藤 玄
3. 日本農芸化学会 2023 年度大会 公開シンポジウム基調講演 2CS-04 「計算化学を基軸とした天然物の生合成研究」 佐藤玄
4. 日本薬学会年会 口頭発表 27E1-pm18S 「Spiroalbatene 生合成におけるカルボカチオン転移反応の理論解析」 ○中野 萌恵・内山 真伸・佐藤 玄

### 留意事項

- ① 3 枚程度で作成してください。
- ② 特許の出願中等の理由により、一定期間公表を見合わせる必要がある箇所がある場合であっても、所定の期日までに公表可能な範囲で作成・提出してください。当該箇所については、後日公表可能となった際に追記して再提出してください。