

**実施課題名: 強力な電位依存性ナトリウムチャンネル阻害活性を有する天然物の構造決定**

【背景】 対象化合物は、強い電位依存性ナトリウムチャンネル( $\text{Na}_v$ )阻害活性を有する化合物である。 $\text{Na}_v$ 阻害作用をもち、さらにサブタイプ特異性が示されれば、疼痛治療薬としての候補になる。そのため、対象化合物の構造決定は、今後の $\text{Na}_v$ 阻害剤の構造活性相関研究や合成研究に重要である。本課題では、高性能で感度のよい $^{13}\text{C}$  NMR,  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC,  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  HMBCなどを測定し、対象化合物の構造情報を収集することを目的とする。

**【実施内容】**

TeamViewerで測定するNMR装置を当方のPCと繋ぎ、微量サンプルの事前準備やシム合わせ等の技術を指導していただいた。その上で、600 MHz, 800 MHz, 900 MHzの装置を用いて、これまでのデータではノイズかシグナルかの判別が不明瞭であった $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC,  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC,  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  HMBCスペクトルを、感度を上げるための条件をさまざまに検討しながら測定した。対象化合物のいくつかの $^{13}\text{C}$ はT1が長いことが予想されたので、 $^{13}\text{C}$  NMRではdelay値(d1)をいくつか変化させて結果を比較した(Fig. 1)。また、 $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBCや $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  HMBCでは、弱いシグナルを検出するために、J値や他のパラメーターを変えるなどして長時間測定を行い、新たな相関を検出した。

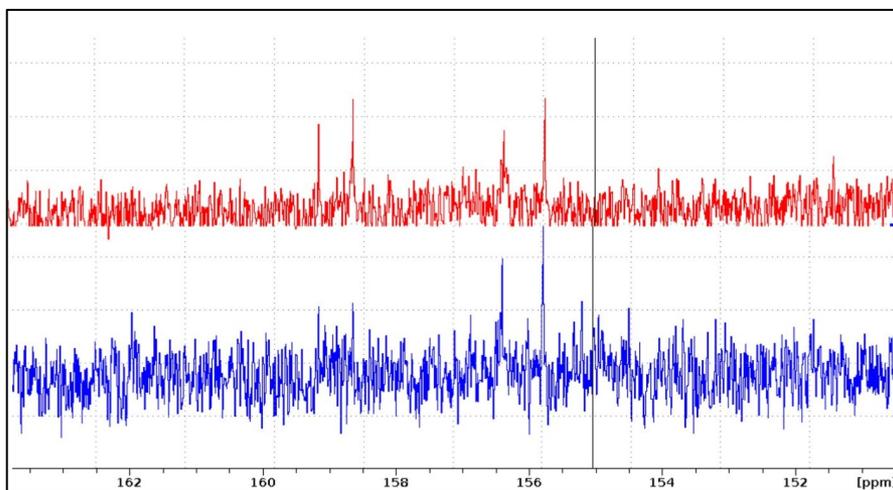


Fig. 1 対象化合物の $^{13}\text{C}$  NMRスペクトル(部分): 上 (d1=1.5 sec), 下 (d1=6 sec)  
d1を長くすることにより156.5 ppmのシグナルがシャープになりs/nが改善された。

NMR 共用プラットフォーム  
実施課題 利用報告書

課題受付番号	PF22-01-057		
利用課題名	強力な電位依存性ナトリウムチャンネル阻害活性を有する天然物の構造決定		
所属機関	東北大学		
所属部署	大学院農学研究科		
役職・氏名	役職	教授	氏名 山下まり
利用実施時期、及び期間	2022年12月26日～2023年10月16日  総利用日数:31日  <input checked="" type="checkbox"/> 当初計画どおり・ <input type="checkbox"/> 当初計画変更 (変更理由)		

## 1. 本課題の概要・目的

対象化合物は、強い電位依存性ナトリウムチャンネル( $\text{Na}_v$ )阻害活性を有する化合物である。 $\text{Na}_v$ 阻害作用をもち、さらにサブタイプ特異性が示されれば、疼痛治療薬としての候補になる。そのため、対象化合物の構造決定は、今後の $\text{Na}_v$ 阻害剤の構造活性相関研究や合成研究に重要である。これまで、骨格構造は推定できたが、十分な $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC 相関が観測されず証明ができない部分構造があった。また、 $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC,  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  HMBC では、いくつかの相関は観測できているが、さらに観測することができれば、より構造情報が得られると考えられた。そのため、本課題では、さらに高性能で感度のよい $^{13}\text{C}$  NMR,  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC,  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  HMBC を測定し、対象化合物の構造情報を収集することを目的とした。

## 2. 成果の概要

### 実施内容

TeamViewer で測定する NMR 装置を当方の PC と繋いで、微量サンプルの事前準備やシム合わせ等の技術指導をしていただいた。その上で、600 MHz, 800 MHz, 900 MHz の装置を用いて、これまでのデータではノイズかシグナルかの判別が不明瞭であった $^{13}\text{C}$  NMR, HSQC,  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC,  $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  HMBC を、感度を上げるための条件をさまざまに検討しながら測定した。対象化合物のいくつかの $^{13}\text{C}$  は T1 が長いことが予想されたので、 $^{13}\text{C}$  NMR では delay 値(d1)をいくつか変化させて結果を比較した。また、 $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC と $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  HMBC は、これまでのデータが正しいかどうか確認し、さらに新たなデータが得られないかどうか、J値やパラメーターを変化させて長時間の測定を行った。

### 本課題により得られた成果と当初目標との比較

$^{13}\text{C}$  NMR で、これまでノイズかシグナルか判別つきにくい、強度の弱い4級炭素のシグナルは、delay 値を大きくすることにより、はっきりと観測することができ、この4級炭素の存在を確認できた。一方、delay を長くすると積算回数は多くできないため、他のシグナルは感度が落ちた。このことから、問題の炭素は他に比べて T1 が長くなる構造を形成していると考えられた。 $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC は、 $J_{\text{CH}}=8$  Hz,  $d1=5$  sec,  $^{13}\text{C}$  point=128, Bruker 800

MHz TXO プローブ, 6.5 days 20°C の測定を行った時に最も良好な結果が得られた。しかし、期待したシグナルは今回の測定でも  $^{13}\text{C}$ - $^1\text{H}$  HMBC 相関が示されず、構造上、HMBC 相関が出にくい 4 級炭素と考えられた。 $^{15}\text{N}$ - $^1\text{H}$  HMBC では、 $J_{\text{NH}}=6$  Hz,  $d_1=5$  sec,  $^{15}\text{N}$  point=64, Bruker 800 MHz TXO プローブ, 3.5 days 20°C の測定でこれまで見えていなかったクロスピークを検出することができた。

## 成果発表

- 1) 日本農芸化学会 2023 年度大会 2023 年 3 月 14 日 (Web) 口頭、サキシトキシンの推定生合成中間体の合成と有毒藍藻および渦鞭毛藻における同定、○袴田真有、安達葉菜、石塚颯、大澤 瞳生、東海林千容、長由扶子、工藤雄大、此木敬一、大島泰克、長澤 和夫、山下まり
- 2) 日本農芸化学会 2023 年度大会 2023 年 3 月 15 日 (Web) 口頭、麻痺性貝毒サキシトキシンの推定生合成中間体の合成研究、○廣住燎亮、長 由扶子、工藤雄大、此木敬一、長澤和夫、山下まり

## 今後の展開

本課題の測定により、微量サンプルの測定において、どのパラメーターを変化させてスペクトルの改善を狙うのか情報を得ることができた。また、微量サンプルでシムをベストの状態まで上げる手法についても学ぶことができた。これらの手法を今後の微量化合物の測定に活かし、構造決定に応用する。

## 3. 社会・経済への波及効果の見通し

本課題の測定で、微量で有用な生物活性を有する化合物の構造決定をするための手法が、高度な装置を使うことにより向上する実感を得た。この手法は創薬や学術的応用ができるため、データを積み上げることにより、社会、経済への波及効果があると考えられる。

## 4. 利用における感想(改善要望等を含む)

最新の装置を TeamViewer で利用者の PC と繋いで、丁寧に測定方法を教えていただいた。また、測定における最善の方法についてアドバイスを受けることができたため、大変有益であった。

## 5. 今後の NMR 共用プラットフォームに対する期待

今後も、高度な装置と技術を広く研究者と共用していただければと期待する。

## 6. 成果公開延期の希望の有無

( ) あり : ( ○ ) なし

「あり」の場合理由:

## 7. その他

なし

## 8. 利用施設

### 理化学研究所

溶液 600MHz

利用期間 : 2022 年 12 月 26 日 15 時 ~ 2022 年 12 月 27 日 15 時 (1 日利用)

利用期間 : 2023 年 10 月 10 日 9 時 ~ 2023 年 10 月 16 日 9 時 (6 日利用)

溶液 800MHz

利用期間 1 : 2023 年 07 月 14 日 9 時 ~ 2023 年 07 月 18 日 9 時 (4 日利用)

利用期間 2 : 2023 年 07 月 25 日 9 時 ~ 2023 年 07 月 31 日 9 時 (6 日利用)

溶液 900MHz

利用期間 1 : 2022 年 12 月 27 日 10 時 ~ 2023 年 01 月 04 日 10 時 (1 週 1 日利用)

利用期間 2 : 2023 年 03 月 07 日 10 時 ~ 2023 年 03 月 13 日 9 時 (5 日 23 時利用)

## 9. その他の利用施設

なし