

《農芸化学奨励賞》

立体化学の解明を指向した天然有機化合物の合成とその生物有機化学への展開



東京農業大学応用生物科学部醸造科学科 准教授 矢島 新

はじめに

生物活性天然有機化合物を化学合成する目的および意義として、

(1) 新規合成法の開発: 標的分子を効率的に合成するためには、新しい方法論が求められる場合が少なくない。特に特異な構造の構築は有機合成における挑戦的課題である。

(2) 天然物の構造決定: 合成化学的手法は、天然物の絶対立体配置を含めた構造を、疑問の余地なく決定する有効な方法の一つである。

(3) 化合物の大量供給: 合成化学的手法により、天然からの単離が困難な化合物であっても、大量供給が可能になる。また、各種異性体・類縁体などの非天然物も供給可能である。よって構造活性相関の解明をはじめ、生命現象を解明するための有効な手段の一つとなりうる。などが挙げられる。

生物学的に重要な生理活性有機化合物は多数存在するが、それらの構造や立体化学が未知のまま放置されては、生命科学を分子レベルで理解する際の妨げとなる。本研究では、合成化学的手法を用いて、興味深い生命現象の鍵を握ると考えられる天然有機化合物の立体化学や構造を明らかにし、生物有機化学的な研究へ展開すべく研究を行った。

1. イネジテルペンファイトアレキシン類の合成

1.1 ファイトカッサン類の合成と絶対立体配置の決定

ファイトカッサン類は1995年に単離された新規の骨格を有するイネジテルペンファイトアレキシンである。Shapiro反応を経由したC-11への酸素官能基の導入を鍵段階として、phytocassane D (1)の全合成を達成した。CDスペクトルの比較により、天然物の絶対立体配置が当初の予想に反し、*ent*-型であることを明らかにした(図1)。

イネの全ゲノム解析が進む中で、ジテルペン型イネファイトアレキシンの生合成遺伝子に注目が集まっていた。すでにモミラクトン類、オリザレキシン類はその絶対立体配置が決定されており、推定される生合成経路および中間体が提案されていた。ファイトアレキシンは、GGDPの閉環により生ずる*syn*-CDPおよび*ent*-CDPの閉環様式の違いにより、前駆体炭化水素が生合成され、それらがさまざまな酸化を受けることによりファイトアレキシンへ誘導されるとされている。ファイトカッサン類生合成経路は知られていなかったが、本結果により、イネファイトアレキシン生合成経路の合理的なスキームを描くこ

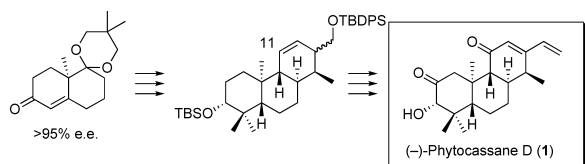


図1 (-)-Phytocassane Dの合成

とが可能となった(図2)。

1.2 ファイトカッサン類生合成中間体の同定への展開

山根久和先生らのグループによりイネにおける新規*ent*-CDP閉環酵素OsDTC1(OsKS7)が同定された。*ent*-CDP閉環酵素としては、オリザレキシン類生合成中間体である*ent*-sandaracopimaradiene (2)合成酵素が知られていたが、OsKS7による反応生成物の構造は不明であった。本酵素はファイトカッサン類生合成に関与していると考えられたことから、酵素反応生成物は*ent*-cassa-12,15-diene (3)であると推定し合成したところ、酵素反応生成物と一致した。すなわち、有機合成化学的手法を用いることにより、ファイトカッサン類の生合成における中間体炭化水素の同定、およびその生合成酵素の同定に寄与することができた(図2)。

1.3 テルペン類の効率的合成法の開発

容易に合成可能なキラルビルディングブロックを出発原料として、*B*-アルキル鈴木-宮浦反応を鍵段階とするテルペン類の効率的な合成法を開発した。本方法により、オリザレキシン類生合成中間体である、*ent*-sandaracopimaradiene (2)、(±)-9βH-pimara-7,15-diene (4)、いもち病菌に対する抗菌活性を有するcryptoquinone (5)などのジテルペン類の合成を達成した。また、特異な構造を有するメロテルペノイドcordiaquinone類(6)の合成を達成し、天然物の立体化学を決定した(図3)。

2. マメゾウムシ類フェロモンのユニークな立体化学-活性相関の発見

アズキゾウムシの交尾誘導フェロモンであるcallosobruchusic acid (7)は1981年に単離され、対応するジメチル

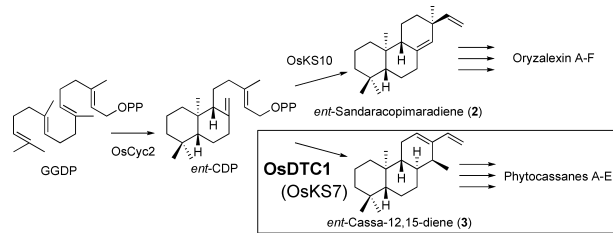


図2 ファイトカッサン類の生合成経路

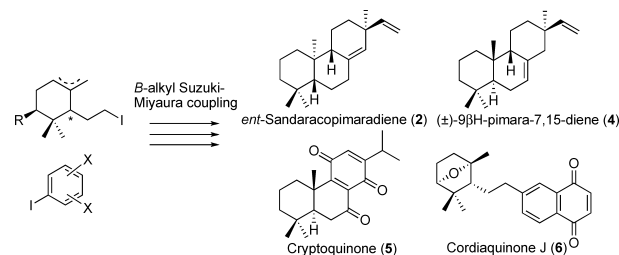


図3 B-アルキル鈴木-宮浦反応を鍵とするテルペン類の合成

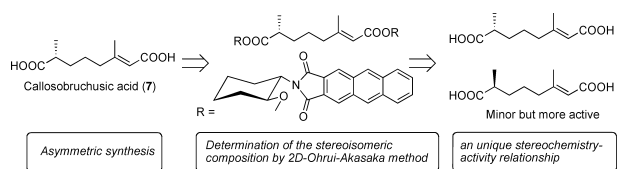


図4 マメゾウムシ類フェロモン

エステルの GC-MS 解析により平面構造が提案されていたが、1) 純粋なサンプルが得られない (比旋光度は測定できない)、2) GC 分析中に分解する (フェロモン分析で一般的に用いられるキラル GC 分析を適用できない)、3) 両鏡像体が生物活性を示すことから、非常に単純な化合物であるにもかかわらず、天然物の絶対立体配置は不明のままであった。これらの困難を克服する手法として大類-赤坂法を用いることにより、天然物は (R):(S)=3:1 の鏡像異性体の混合物であることを明らかにした。このフェロモンは (S)-体が (R)-体の約 2 倍強い活性を有していることから、アズキノウムシの雌は**活性の弱い異性体をより多く分泌している**という、生物学的に興味深い知見が得られた。本研究で用いた方法論は幅広い昆虫フェロモンの立体化学の決定へ応用が可能であると考えている (図 4)。

3. 微生物制御物質の合成

3.1 根粒菌 *Rhizobium reguminosarum* のクオラムセンシングフェロモンの合成

R. reguminosarum の自身の生育を抑制するクオラムセンシングフェロモンとして同定された *small* (8) はグラム陰性菌のクオラムセンシングに幅広く用いられている 3-hydroxyacyl homoserine lactone (3-OH-AHL) の一種である。3-OH-AHL 類に関する報告は多数なされているが、3-位の立体化学に関しては曖昧なものが多く、*small* (8) もキラルシフト試薬を用いた天然物の絶対立体配置の推定がなされていたのみであった。そこで、Nagao アルドール反応を鍵段階とする 3-OH-AHL の一般合成法を開発し、*small* (8) の可能な 4 種の立体異性体を合成した。3-OH-AHL 類の相対立体配置は、 ^1H NMR スペクトルの比較により容易に決定可能であることを示すことができた。*small* (8) の 4 種の立体異性体について生物検定試験を行ったところ、意外なことに活性発現にはホモセリンラクトン部の立体化学は重要でなく、側鎖 3 位水酸基の立体化学が重要であるということを明らかにすることができた (図 5)。

3.2 疫病菌 *Phytophthora* の卵胞子誘導ホルモン $\alpha 1$ の絶対立体配置の決定

疫病菌の卵胞子形成にホルモン様物質 ($\alpha 1$ および $\alpha 2$) が関与していることは 1929 年に報告されていたが、その構造決定は存在量の圧倒的な少なさから困難を極めた。しかし、2005 年に小鹿 一先生らによって *P. nicotianae* の約 2 t の培養液から 1.2 mg の $\alpha 1$ (9) が単離され、平面構造が提出された。 $\alpha 1$ (9) は鎖状構造中に四つの不斉中心を有していることから、16 の立体異性体が存在するが、Moscher 法により 3 位、15 位の立体化学は R であることが判明した。よって、残る可能な 4 種の立体異性体を立体選択的に、かつ高い立体異性体純度で合成した。それらの生物活性試験を行ったところ、ただ一つの異性

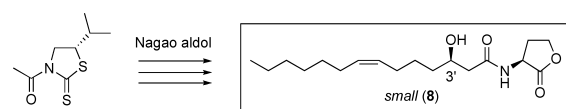
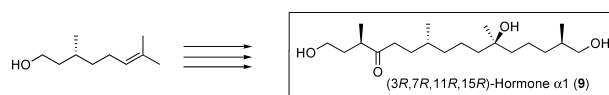


図5 3-OH-AHL 類の合成

図6 疫病菌卵胞子誘導ホルモン $\alpha 1$ の合成

体のみが活性を示したことから、天然物の絶対立体配置を決定することができた。本成果は、約 80 年におよぶ $\alpha 1$ の構造研究に終止符を打つとともに、 $\alpha 1$ の活性発現に立体化学が重要であることを示し、今後の疫病菌有性生殖の研究における礎となるものと考えられる (図 6)。

おわりに

以上のように、本研究では単離構造決定された天然有機化合物の中で、立体化学や構造が未決定の化合物に関して合成研究を行った。分析化学的手法が天然有機化合物の構造決定に果たす大きな役割については論を待たないが、最終的な立体化学を含めた構造の確定に合成化学的手法が貢献できることを示すことができた。天然には存在しない立体異性体や誘導体を合成することにより、生物学的に興味深い知見を得ることができた。すなわち、生物学的に興味深い現象の鍵を握る化合物の合成による構造決定、それに引き続く生物有機化学的な研究へと展開することができた。構造が未決定のまま放置されている生理活性天然有機化合物はいまだ数多く存在するものと考えられることから、それらの未利用資源を最大限に活用し、“化学と生物”の発展に寄与するべく本研究を進展させていきたいと考えている。

本研究は、学部生・大学院生として所属していた東京理科大学理学部化学科から開始し、東京農業大学応用生物科学部醸造科学科において行われたものであります。本研究開始当初から多大なご指導ご鞭撻を賜り、本奨励賞にご推薦いただきました森 謙治先生 (東京大学名誉教授) に深甚なる感謝の意を表します。研究遂行に当たりまして、多大なご指導を賜りました滝川浩郷先生 (神戸大学准教授)、故 森 信雄先生 (東京理科大学教授)、藪田五郎先生 (東京農業大学教授)、額田恭郎先生 (東京農業大学教授) に感謝いたします。本研究に多大なご協力を賜りました山根久和先生 (東京大学教授)、大類 洋先生 (横浜薬科大学教授)、赤坂和昭先生 (尚絅学院大学教授)、坂神洋次先生 (名古屋大学教授)、小鹿 一先生 (名古屋大学教授) に心から感謝いたします。また、東京農業大学応用生物科学部醸造科学科醸造資源化学研究室にて昼夜を問わず共に実験に励んでくれた学生の皆様に心より御礼申し上げます。ここですべての方のお名前を挙げることはできませんが、本研究に携わっていただいた共同研究者の皆様、ご指導を賜りました諸先生方に厚く御礼申し上げます。