

令和元年6月11日現在

機関番号：82401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07724

研究課題名(和文) 13C-NMR化学シフト値を用いる天然有機化合物の構造解析の評価と構造訂正研究

研究課題名(英文) Evaluation of structure determination of natural products by using 13C NMR chemical shifts and study of structural revision

研究代表者

越野 広雪 (Koshino, Hiroyuki)

国立研究開発法人理化学研究所・環境資源科学研究センター・ユニットリーダー

研究者番号：50321758

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：CAST/CNMRシステムは、有機化合物の13C NMRシフト値を予測できる機能と、13C NMRデータからその化合物の部分構造の検索や構造推定できる二つの機能を有するコンピュータシステムである。CAST/CNMRシステムを用いて、そのデータベースに登録する文献記載の13C NMRデータと化学構造式が正しいかどうか評価できるか検討した。その結果数多くの文献記載の構造解析に間違いが存在し構造訂正が必要であることを明らかにし、幾つかの化合物については構造訂正を行った。

研究成果の学術的意義や社会的意義

構造解析の論文は、関連する化合物の構造解析に参照され、その間違いは負の連鎖を引き起こす可能性があるが、構造やNMRデータの間違いを見いだせる事は天然物化学などに置いて重要である

研究成果の概要(英文)：The CAST/CNMR system is composed of two functions for prediction of 13C NMR chemical shift values from a query of chemical structure of organic compound and elucidation of chemical structures from a query of 13C NMR data. We have used the CAST/CNMR system to find and correct wrong NMR assignments and chemical structures for database of the system. Even authorized journals sometimes contain wrong NMR signal assignments and incorrect characterization of chemical structure. We have found incorrect data when developing the database and revised some natural products by using the CAST/CNMR system.

研究分野：構造解析

キーワード：構造訂正 天然有機化合物 NMR 立体化学 テルペノイド フェノール 構造解析

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

化学構造式に対して<sup>13</sup>C NMRの化学シフト値の予測を行うCAST/CNMRシステムを開発し、立体化学や環構造など化学構造の特徴を反映させて高精度でシフト予測をできることを実証して来た。その後<sup>13</sup>C NMRのシフト値に対して該当する部分構造を検索し、それらの部分構造から推定構造を提案する機能が加わり、CAST/CNMRシステムの応用研究を検討していた。CAST/CNMRシステムの予測制度と適用範囲は、そのデータベースの質と量に依存するが、これまでデータベースの拡充の過程で、報告されている化合物に構造訂正の必要があるものが数多く存在することが示唆されるようになって来ていた。データベースを高品質に維持したまま拡充するには、登録するデータの効率的な評価が必要であった。

### 2. 研究の目的

CAST/CNMRシステムの出力結果は独自に構築しているデータベースに依存する。すなわちデータベースに登録されているデータの質と量が問題になる。本研究の目的は、CAST/CNMRシステムを活用して<sup>13</sup>C NMRのデータを的確に評価する方法を確立し、データベースに登録するデータの質を高品質に保てるようにし、その応用研究として既知物質を異なる構造の新規物質として報告している間違っただけの構造解析を効率的に見出し、構造訂正研究を行うことである。さらに個別の構造解析の問題点をより一般的な問題として取り上げ、構造解析における<sup>13</sup>C NMRの有効利用と評価方法としてCAST/CNMRシステムの有用性を明らかにすることを目的とした。

### 3. 研究の方法

毎年新たに報告される新規天然有機化合物の文献を中心にCAST/CNMRシステムのデータベースにデータを登録すると同時に、本システムを用いて化学構造と<sup>13</sup>C NMRデータに矛盾がないか評価していく。具体的には化学構造式をクエリーとしてCAST/CNMRのShift Predictorを実行し、シフト予測に利用されるデータの分布を調べ、入力構造と同じ部分構造を有するデータベース内の化合物のシフト値に矛盾がないか確認した。次に入力した<sup>13</sup>C NMRのシフト値をクエリーとしてStructure Elucidatorを実行し、部分構造が異なるにもかかわらずシフト値の組み合わせが類似しているデータがないか調べた。化学構造とNMRデータに矛盾が見出された事例に関しては、論文記載の構造決定と帰属などのデータの解釈に問題がないか詳細に内容を検討した。さらに関連する化合物を詳細に文献検索し、見出された化合物の文献値をデータベースに登録し、CAST/CNMRシステムを用いて再評価を行った。文献記載のデータのみで構造訂正が困難な場合も少なくないが、その様な場合には試料が入手できればNMRの測定と再解析をしたり、可能な範囲でモデル化合物の化学合成あるいは提唱されている構造式の化合物の全合成などによって構造訂正研究を行った。

### 4. 研究成果

(1) CAST/CNMRシステムの既存のデータに約1,400件のデータを追加し最終的に約7,000件のデータをデータベースに登録し、登録した<sup>13</sup>C NMRデータ及び化学構造について評価研究を行った。その結果、<sup>13</sup>C NMRデータをクエリーとしてStructure Elucidatorを実行すると、全く異なる構造式が見出されるなど、既知化合物を別な構造の新規化合物として報告している例など、幾つも構造訂正が必要な化合物の報告が見出された。例えば、flufuranは5員環のフラン骨格の構造5-hydroxymethyl-furan-3-carboxylic acidが提唱されていたが、6員環のγ-ピロン骨格の既知物質コウジ酸のNMRデータと一致し、flufuranの提唱構造について類縁体の化合物のNMRデータを調べた結果矛盾が認められたので、コウジ酸に構造訂正した。

(2) プレニル化されたフェノール類などについて検討した結果、ヒドロキノンに二種類のプレニル基由来の置換基を有するコモスソール類のうち(Z)-3-hydroxy-3-methyl-1-butenyl基を有するコモスソールBは側鎖の水酸基とフェノールの水酸基がエーテル結合して6員環になったクロメン骨格の化合物と<sup>13</sup>C NMRデータは良い一致を示し、このクロメン骨格の化合物には合成の報告例もあり、そちらの化合物が正しい構造であると決定した。この例では、元の提唱構造と訂正構造の間で分子量の違いがあるが、CAST/CNMRシステムでの検索では、分子量、分子式の情報を用いないので、容易に正しい構造を見いだすことができた例となった。同様に(Z)-3-hydroxy-3-methyl-1-butenyl基を有するフェノール化合物について検討した結果、数種のフラボノイド類において同様にクロメン骨格への構造訂正が必要であることを明らかにした。

(3) 植物や琥珀由来の複数のジテルペンの構造解析を行ったので、関連するラブダン型及びクレロダン型ジテルペンなどを中心にテルペン類のデータ評価を行った。CAST/CNMRシステムでは立体化学を考慮できることが特徴の一つなので、シス型のデカリン骨格を有する化合物に着目して検討した。その結果珍しいcis-デカリン骨格のラブダンで、側鎖の構造のみ異なるcis-sclareolとvulgarolはtrans-デカリン骨格で、9位のエピマーに構造訂正する必要があることが<sup>13</sup>C NMRのシフト値の解析から明らかになった。セイタカアワダチソウ由来のクレロダン型ジテルペンにはcis型もtrans型デカリン骨格も共に数多く報告されているが、複数のtrans型の化合物はcis型で、9位の立体化学と合わせて構造訂正が必要であった。

(4) 文献記載のデータで構造訂正が困難な場合には、元の提唱構造と構造訂正した構造の全合成を行い、詳細にNMRデータを解析することにより構造訂正が可能であった。アセトゲニンで

5 員環のテトラヒドロフラン環を有する aromin は、6 員環のテトラヒドロピラン環の montanacin D に全合成研究によって構造訂正した。ジベンゾフラン環を有する *p*-テルフェニル系の polyozellin は対称構造で中央のベンゼン環の置換基がパラ置換の構造として報告されていたが、パラ置換とオルト置換の両異性体を合成して NMR データを比較した結果、オルト体に構造訂正する事が出来た。

(5) CAST/CNMR システムをフリーウェアとして公開するために、NMR データ処理システムとして普及している Delta NMR ソフトウェア (日本電子(株)) に CAST/CNMR システムとのインターフェース機能を共同開発し、実測の  $^{13}\text{C}$  NMR スペクトルから Structure Elucidator のクエリーを容易に作成でき、実行条件の設定と実行を可能にした。また化学構造をクエリーとして化学シフト値を予測する Shift Predictor の出力結果をスペクトルとして表示し、実測との比較を容易にした。さらにシフト値の予測に利用された個々のデータのシフト値をスペクトルと同様に視覚化し、予測に利用されたデータの分布を容易に確認できるようになり、帰属や構造の間違ひがある場合に、予測値と大きく異なるデータの存在が容易に判別でき便利な機能として利用可能になった。本研究によって、CAST/CNMR システムの利用により、帰属の間違ひ、構造訂正が必要なデータの発見が容易になり、正しい帰属や構造訂正にも利用できることから、文献値の  $^{13}\text{C}$  NMR データと化学構造の評価に有効利用できる事が明らかになった。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 27 件)

- 1) T. Uchida, H. Koshino, J. Abe, M. Hakozaiki, H. Yamada, K. Kimura, "Isolation of yeast  $\text{Ca}^{2+}$  signal transduction inhibitors from the early Cretaceous Brumese amber", *Fitoterapia*, **134**, 422-428 (2019) 査読有, DOI:10.1016/j.fitote.2019.02.018
- 2) E. Shimizu, H. Koshino, A. Noro, M. Maruyama, N. Shimoda, S. Uesugi, M. Ohnishi, K. Kimura, "Isolation of a spiro lactone norditerpenoid as a yeast  $\text{Ca}^{2+}$  signal transduction inhibitor from Kuji amber and evaluation of its effects on PPM1A activity", *Fitoterapia*, **134**, 290-296 (2019) 査読有, DOI:10.1016/j.fitote.2019.02.027
- 3) J. B. McAlpine, H. Koshino 他 70 名, 32 番目, "The value of universally available raw NMR data for transparency, reproducibility, and integrity in natural product research", *Nat. Prod. Rep.* **36**, 35-107 (2019). 査読有, DOI:10.1039/c7np00064b
- 4) T. Shiina, K. Nakagawa, Y. Fujisaki, H. Koshino, 他 7 名, 8 番目, "Biosynthetic study of conidiation-inducing factor conidiogenone: heterologous production and cyclization mechanism of a key bifunctional diterpene synthase", *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, **83**, 192-201 (2019), 査読有, DOI:10.1080/09168451.2018.1536518
- 5) M. Horinouchi, H. Koshino, M. Malon, H. Hirota, T. Hayashi, "Identification of 9-oxo-1, 2, 3, 4, 5, 6, 10, 19-octanor-13, 17-secoandrost-8(14)-ene-7, 17, dioic acid as a metabolite of steroid degradation in *Comamonas testosteroni* TA441 and the genes involved in the conversion", *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **185**, 268-276 (2019), 査読有, DOI: 10.1016/j.jsbmb.2018.07.009
- 6) M. Horinouchi, H. Koshino, M. Malon, H. Hirota, T. Hayashi, "Steroid degradation in *Comamonas testosteroni* TA441: Identification of Metabolites and the genes involved in the reactions necessary before D-ring cleavage", *Appl. Environ. Microbiol.* **84**, e01324-18 (2018), 査読有, DOI: 10.1128/AEM.01324-18
- 7) P. Kralova, M. Malon, H. Koshino, M. Soral, "Convenient synthesis of thiohydantoins, imidazole-2-thiones and imidazo[2,1-*b*]thiazol-4-iums from polymer-supported  $\alpha$ -acylamino ketones", *Molecules*, **23**, 976 (2018), 査読有, DOI: 10.3390/molecules23040976
- 8) E. Ota, K. Usui, K. Oonuma, H. Koshino, S. Nishiyama, G. Hirai, M. Sodeoka, "Thienyl-substituted  $\alpha$ -ketoamide: A less hydrophobic reactive group for photo-affinity labeling", *ACS Chem. Biol.*, **13**, 876-880 (2018), 査読有, DOI: 10.1021/acscchembio.7b00988
- 9) T. Uchida, H. Koshino, S. Takahashi, E. Shimizu, H. Takahashi, J. Yoshida, H. Shinden, M. Tsujimura, H. Kofujita, S. Uesugi, K. Kimura, " $\text{Ca}^{2+}$ -Signal transduction inhibitors, kujiol A and kujigamberol B, isolated from Kuji amber using a mutant yeast", *J. Nat. Prod.*, **81**, 1070-1074 (2018), 査読有, DOI: 10.1021.acs.jnatprod.7b00922
- 10) T. Kawamura, H. Koshino, T. Nakamura, Y. Nagasawa, H. Nanao, M. Shirai, S. Uesugi, M. Ohno, K. Kimura, "Amberene and 1-methylamberene, isolated and identified from Kuji amber (Japan)", *Org. Geochem.*, **120**, 12-18 (2018), 査読有, DOI: 10.1016/j.orggeochem.2018.02.014
- 11) S. Takahashi, T. Kawano, N. Nakajima, Y. Suda, N. Usukhbayar, K. Kimura, H. Koshino, "Synthesis of polyozellin, a prolyl oligopeptidase inhibitor, and its structural revision", *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **28**, 930-933 (2018), 査読有, DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.01.054

- 12) N. A. Herman, S. J. Kim, J. S. Li, W. Cai, H. Koshino, W. Zhang, “The industrial anaerobe *Clostridium acetobutylicum* uses polyketides to regulate cellular differentiation”, *Nat. Commun.* **8**, 1514 (2017), 査読有, DOI: 10.1038/w41467-017-01809-5
- 13) J. Otaka, D. Hashizume, Y. Masumoto, A. Muranaka, M. Uchiyama, H. Koshino, Y. Futamura, H. Osada, “Hitoyol A and B, two norsesquiterpenoids from the Basidiomycete *Coprinopsis cinerea*”, *Org. Lett.*, **19**, 4030-4033 (2017), 査読有, DOI: 10.1021/acs.orglett.7b01784
- 14) N. C. Harris, M. Sato, N. A. Herman, H. Koshino, 他 8 名, 11 番目, “Biosynthesis of isonitrile lipopeptides by conserved nonribosomal peptide synthetase gene clusters in Actinobacteria”, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **114**, 7025-7030 (2017), 査読有, DOI: 10.1073/pnas.1705016114
- 15) T. Saito, M. Morita, H. Koshino, M. Sodeoka, T. Nakata, “Convergent synthesis of the *ent*-ZA' B' C' D' -ring system of maitotoxin”, *Org. Lett.*, **19**, 3203-3206 (2017), 査読有, DOI: 10.1021/acs.orglett.7b01301
- 16) K. Kusakabe, Y. Honmura, S. Uesugi, A. Tonouchi, H. Maeda, K. Kimura, H. Koshino, M. Hashimoto, “Neomacrophorin X, a [4.4.3]propellane-type meroterpenoid from *Trichoderma* sp. 1212-03”, *J. Nat. Prod.*, **80**, 1484-1492 (2017), 査読有, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b01177
- 17) P. Funk, K. Motyka, M. Sural, M. Malon, H. Koshino, J. Kusz, J. Hlavac, “Study of 2-aminoquinolin-4(1H)-one under Mannich and retro-Mannich reaction”, *PLoS ONE*, **12**, e0175364 (2017), 査読有, DOI: 10.1371/journal.pone.0175364
- 18) S. Takahashi, Y. Suda, T. Nakamura, K. Matsuoka, H. Koshino, “Total synthesis of kekokorins A-E, cytotoxic *p*-terphenyls”, *J. Org. Chem.*, **82**, 3159-3166 (2017), 査読有, DOI: 10.1021/acs.joc.7b00147
- 19) Y. J. Kim, H.-J. Kim, G.-W. Kim, K. Cho, S. Takahashi, H. Koshino, W.-G. Kim, “Isolation of coralmycins A and B, potent anti-Gram negative compounds from the Myxobacteria *Coralloccoccus coralloides* M23”, *J. Nat. Prod.*, **79**, 2223-2228 (2016), 査読有, DOI: 10.1021/acs.jnatprod.6b00294
- 20) S. Takahashi, D. Satoh, M. Hayashi, K. Takahashi, K. Yamaguchi, T. Nakamura, H. Koshino, “Total synthesis of the proposed structure for aromin and its structural revision”, *J. Org. Chem.*, **81**, 11222-11234 (2016), 査読有, DOI: 10.1021/acs.joc.6b02187

など

〔学会発表〕 (計 18 件)

- 1) 越野広雪、小市俊悟、佐藤寛子、<sup>13</sup>C NMR 化学シフト予測・部分構造検索機能を有する CAST/CNMR システムの高分子への応用の検討、第 23 回高分子分析討論会、2018
- 2) 越野広雪、朝倉克夫、栗本智充、小市俊悟、佐藤寛子、<sup>13</sup>C NMR 化学シフト予測・部分構造検索機能を有する CAST/CNMR システムの公開、第 57 回 NMR 討論会、2018
- 3) H. Koshino, S. Koihci, H. Satoh, Structural revision of terpenoids and related natural products by using CAST/CNMR system, EUROMAR Nantes 2018
- 4) 越野広雪、栗澤尚瑛、木村賢一、小市俊悟、佐藤寛子、CAST/CNMR システムを用いた Clerodane 型ジテルペンの <sup>13</sup>C NMR の帰属と構造の評価、第 56 回 NMR 討論会、2017
- 5) 越野広雪、小市俊悟、佐藤寛子、CAST/CNMR システムを用いたプレニル化されたフェノール類の構造訂正、第 61 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、2017
- 6) 越野広雪、小市俊悟、佐藤寛子、CAST/CNMR システムを用いた <sup>13</sup>C NMR シフト値による様々な有機化合物の構造訂正、第 55 回 NMR 討論会、2016
- 7) 越野広雪、小市俊悟、佐藤寛子、CAST/CNMR システムを用いた *cis*-デカリン骨格を有するテルペノイドの立体化学の評価、第 60 回香料・テルペンおよび精油化学に関する討論会、2016
- 8) H. Koshino, S. Koihci, H. Satoh, Structural revision of pyrone-related natural products by using CAST/CNMR system, EUROMAR Aarhus 2016

など

〔図書〕 (計 2 件)

- 1) H. Koshino and T. Usui, Springer, Bioprobes 2<sup>nd</sup> Edition, Chapter 6 Bioprobes at a Glance, 2017, pp149-371.

など

〔産業財産権〕

- 出願状況 (計 0 件)

○取得状況（計 0 件）

〔その他〕

CAST/CNMR システムの無償公開のホームページ

[https://www.jeol.co.jp/products/detail/CAST\\_C.html](https://www.jeol.co.jp/products/detail/CAST_C.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

なし

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：佐藤寛子

ローマ字氏名：Sato Hiroko

研究協力者氏名：小市俊悟

ローマ字氏名：Koichi Shungo

研究協力者氏名：高橋俊哉

ローマ字氏名：Takahashi Shunya

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。