

平成 23 年 5 月 31 日現在

機関番号： 82401  
 研究種目： 基盤研究(C)  
 研究期間： 2008～2010  
 課題番号： 20580118  
 研究課題名(和文)  
 化学シフトとスピン結合定数を利用するカルボニル化合物の新しい立体化学解析法の開発  
 研究課題名(英文) A new method for analysis of stereochemistry in carbonyl containing compounds using chemical shifts and spin coupling constant values  
 研究代表者  
 越野 広雪 (KOSHINO HIROYUKI)  
 独立行政法人理化学研究所・物質構造解析チーム・チームヘッド  
 研究者番号： 50321758

研究成果の概要(和文)：ケトン、エステルなどのカルボニル炭素を含む化合物のカルボニル炭素近傍の立体配座およびカルボニル炭素を介した相対配置の解析法を開発することを目的とし、カルボニル炭素の $\alpha$ 位の $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  ジェミナルスピン結合定数がカルボニル酸素との二面角に依存すること、および化学シフト値の比較により相対配置の決定が可能であることを明らかにした。構造訂正研究としてフォモプシン B などの構造訂正を行った。

研究成果の概要(英文)：Usefulness of geminal spin-coupling constant values on  $\alpha$  methylene at carbonyl groups was found and developed as a method for conformational analysis to the dihedral angle between a carbonyl oxygen and methylene protons. To determination of relative stereochemistry through the carbonyl group, comparison of  $^{13}\text{C}$ -NMR chemical shift values was effective. Structural revision of phomopsin B was also reported.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008 年度	900,000	270,000	1,170,000
2009 年度	800,000	240,000	1,040,000
2010 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,500,000	750,000	3,250,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：農芸化学・生物生産化学・生物有機化学

キーワード：CAST/CNMR, 構造訂正, フォモプシン B, 環状ケトン, テルフェニル, 立体配座

## 1. 研究開始当初の背景

NMR を利用したケトン、アルデヒド、カルボン酸、エステル、アミドなどのカルボニル炭素を含む化合物のカルボニル炭素近傍の立体配座を解析する手法や、カルボニル炭素を介した左右の部分構造間の相対立体化学を決定する一般的な方法論は確立されていなかった。 $^{13}\text{C}$ -NMR の化学シフトを有

効利用する方法として、Kishi らは比較的小さな部分構造の立体異性体モデル化合物をすべて化学合成し、その NMR データをユニバーサルデータベースと命名し、モデルと解析対象化合物との間でシフト値の比較により相対立体化学を決定する方法を報告していた。(Y. Kobayashi et al, *Org. Lett.*, **1**, 2177-2180, 2181-2184 (1999), *Helv. Chim. Acta*, **83**, 2562-2571(2000))。しかし、こ

の手法は鎖状化合物のアルコールおよびメチル基の立体異性体に関するものが中心で、カルボニル炭素近傍の解析を目的とする研究は報告されていなかった。<sup>1</sup>H-NMRの有効利用という観点では、カルボニル基の配向が遮蔽効果に大きく影響することを利用し、重ベンゼンなどの芳香族系溶媒と重クロロホルムなどの非芳香族系溶媒のデータを比較して解析する古典的な手法があるが、適用対象は配座の自由度の低い環状化合物に限られていた。一方、スピン結合定数を利用する方法として Murata らが開発した JBCA(*J*-based configuration analysis)法が知られ、<sup>3</sup>J<sub>H,H</sub>および<sup>3</sup>J<sub>C,H</sub>が二面角に依存すること、および<sup>2</sup>J<sub>C,H</sub>が水酸基やエーテル酸素の配向に依存することを利用した解析方法である (N. Matsumori et al, *J. Org. Chem.*, **64**, 866-876(1999))。しかし、カルボニル炭素を介した部分構造間の解析に適用するための解釈の方法は報告されていなかった。

最近、独自に開発してきた<sup>13</sup>C-NMR化学シフト精密予測コンピュータシステムCAST/CNMRを活用した応用として、データベースに基づくCAST/CNMRの<sup>13</sup>C-NMRシフト予測値と実測値の比較による相対立体配置を決定する方法を進展させてきた。しかし、カルボニル炭素を含む化合物に着目したデータベースの構築はこれまでしてこなかったが、構造解析に有効利用できる可能性は十分に予想されていた。

## 2. 研究の目的

これまでケトン、エステル、アミドなどのカルボニル炭素を含む化合物はカルボニル炭素を介した相対配置の解析が比較的困難であり、還元や加水分解反応を必要としないNMRを利用した解析法の開発は重要である。また、カルボニル炭素の近傍の立体配座はカルボニル酸素の配向に関する情報を含み、その解析は構造活性相関や反応性の議論に重要であると考えられる。そこでカルボキシル基やアルデヒドなどの末端に存在するカルボニル基も含め、立体配座情報を得るための方法論の開発を目的とした。さらに、カルボニル炭素を含む化合物全般の構造解析に有効なCAST/CNMRのデータベースの拡充と応用研究への展開を目的とした。

## 3. 研究の方法

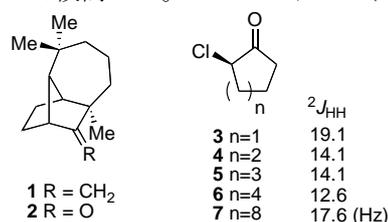
市販の環状ケトンなど、カルボニル炭素を含む化合物や、様々な天然有機化合物の合成研究における合成中間体を中心にカルボニル炭素を含む化合物に関して、詳細にNMRの解析を行うこととした。<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C間の2ボンドおよび3ボンドのスピン結合定数の測定には、HETLOC法、*f*-IMEPEACH法、2D-*f*-HMBC法を用いた。<sup>13</sup>C-<sup>13</sup>Cの2ボンドおよび3ボンド

のスピン結合定数の測定にはPFG-INADEQUATE法を用いた。化学シフトの帰属は通常の2D-NMRによって確認し、必要に応じて測定溶媒としては重クロロホルムその他、重ベンゼン、重メタノール、重DMSO、重アセトン、重ピリジンなどを用いた。

CAST/CNMRシステムへ登録するためのデータは実測データの他、文献値から収集した。配座解析はカルボニル炭素近傍以外のスピン結合定数およびNOEの解釈により行った。立体配座とスピン結合定数の関係を議論する場合には、カルボニル酸素と $\alpha$ 位の置換基とがなす二面角に着目し、配座の自由度が低いものを中心に解析した。

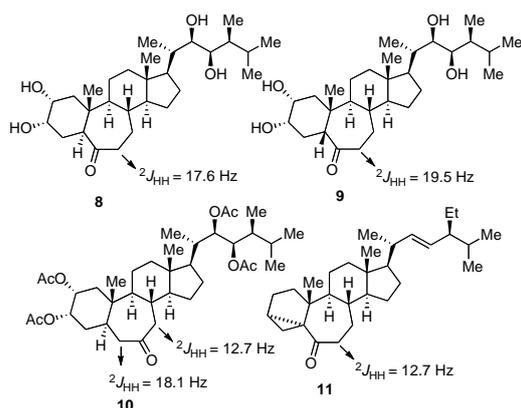
## 4. 研究成果

カルボニル炭素近傍の立体化学の解析にどのようなスピン結合定数が利用可能か、いくつかの実測値を用いて検討した。ロンギフォレン(1)および

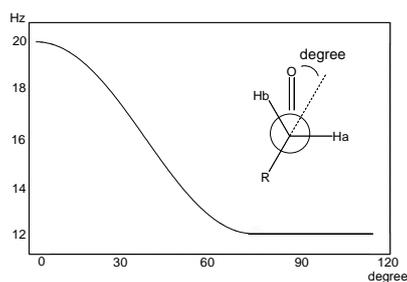


エキソメチレンをケトンにした化合物(2)に関してPFG-INADEQUATEにより各2ボンドおよび3ボンドの<sup>13</sup>C-<sup>13</sup>Cスピン結合定数を求めた結果、カルボニル炭素の $\alpha$ 位のジェミナルスピン結合に関しては2, 3Hz以下の値であり、絶対値が小さく一般的な解析法として議論することが困難であると予想された。単純な環状ケトンの例として2位に塩素が置換した環状ケトン(3)-(7)に関して<sup>1</sup>H-<sup>13</sup>C間の2ボンドおよび3ボンドのスピン結合定数および<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>H間のスピン結合定数を求めた。どの化合物でもH-C-C(O)-Cの3結合のスピン結合定数は小さく、二面角が180°に近い場合には相関が観測されるが、そこから外れてくるとS/Nが悪い場合にはHMMBCでも相関が観測されないこともあった。H-C-C(O)の2ボンドのスピン結合定数は6.5Hz以下で幅を持っていたが、分子の配座よりカルボニル炭素の $\alpha$ 位の置換基の影響が大きく、類似した構造間の比較に用いることは有効であると思われるが、一般的な規則性は残念ながら見出せなかった。他のケトン化合物において、 $\alpha$ 位のジェミナルスピン結合(H-C $\alpha$ -C $\beta$ )を検討した結果も置換基効果が大きく、特に $\beta$ 位に酸素が置換していると通常のJBCA法でも利用されるようにその部分の立体配座の寄与が大きく、そこに上乘せされている可能性のあるカルボニルの酸素の配向による効果は比較的小さいと予想された。一方、環状ケトン(3)-(7)の $\alpha$ 位のメチレンの<sup>1</sup>H-<sup>1</sup>Hジェミナルスピン結合を構造式の横に記載したが、環の大きさにより様々な値を取ることが分かった。これは本研究を開始するときから期待していたことであるが、カルボニル酸素とメチレン水素との二面角と関連付け出来ると期待された。しかし単純な環状ケトンでは環のサイズが大きくなるほど配座の自由度が増し、ジェミナルスピン結合定数

の値から一義的に環状ケトンの配座情報が得られることは無く、複数の配座の寄与をそれぞれの配座の存在比に応じて受けた平均的な値を測定値として得られていると予想された。複数の配座の寄与を同様に受けるのは NMR における化学シフトも同じである。カルボニル炭素の  $\alpha$  位のメチレンの  $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  ジェミナルスピン結合と 2 面角の関係は立体配座の自由度が低い環状ケトンを用いて解析することとした。その解析に用いたステロイドの一例として化合物 (8)-(11) の構造とケトンの  $\alpha$  位のジェミナルスピン結合定数を以下に示す。 $^2J_{\text{H,H}}$  スピン結合定数は 5 位の



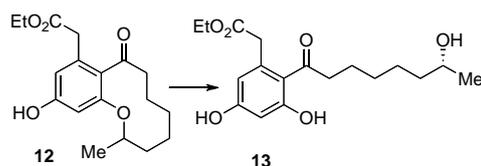
立体が  $\alpha$  である化合物 (8) で 17.6Hz、5 位が  $\beta$  の化合物 (9) で 19.5Hz と大きな値であった。一方、同じ 7 員環ケトンでも A 環に 3 員環を有し配座が異なる化合物 (11) では 12.7Hz と小さな値であった。化合物 (8) の位置異性体のアセテートに相当する化合物 (10) では、18.1Hz と 12.7Hz と異なる値を示した。これらを含む環状ケトンの配座解析と  $^2J_{\text{H,H}}$  スピン結合定数の関係を調べた結果、以下の図に示すようにケトンのカルボニル酸素とメチレンとの二面角に関して規則性があることが見出された。すなわちカルボニル酸素とカ



ルボニルの  $\beta$  位である R がなす二面角から  $180^\circ$  を差し引いた値を図中で degree として記載しているが、その角度が  $0^\circ$  付近で最大値の 20Hz 弱の大きな値をとり、 $60^\circ$  以上になると 12Hz 前後の通常のカボニル炭素が存在しない場合のメチレンのジェミナルスピン結合定数と同様な値を示すようになる。調べた範囲ではこの規則性は環状ケトンの配座解析に有用な情報であると考えられた。ここで注意すべき点は、環状ケトンであっても複数の配座を取る化合物は非常に多く、実

測のジェミナルスピン結合はひとつの配座に由来するものではなく、存在する配座の存在比に依存したものであることである。14Hz から 18Hz の間のスピン結合を示す場合には単一の配座に由来する場合と複数の配座に由来する場合の両方の可能性を考えて解析する必要がある。主要な配座が 2 種類と予想される場合には、それぞれの配座で予想されるジェミナルスピン結合の存在比に応じた平均値として予測値を求めることが容易にでき、計算化学的手法で求められる配座の検証に利用できるひとつの実験値になると考えられた。NMR による配座解析には NOE の情報を利用することも一般的であるが、スピン結合定数や化学シフトとは異なり、NOE はマイナーな立体配座であっても距離に応じて強い NOE が観測されることが知られ、観測された NOE のみに依存した配座解析が解釈の間違いを引き起こす例もあり、注意する必要があるが、配座解析にケトンなどのカルボニル炭素の  $\alpha$  位の  $^2J_{\text{H,H}}$  スピン結合定数を利用できることは重要である。環状ケトン以外にラクトンでも同様な規則が適用できる事は、調べた範囲では予想できたが、一般的にラクトンではエステルの酸素が存在する分だけ、配座の自由度は増える傾向が強いと思われた。鎖状化合物に関しては、同様の解釈は可能であるが、水素結合などが存在しない場合には一般的に複数の配座 (自由回転を含む) の寄与を考慮する必要があると考えられた。

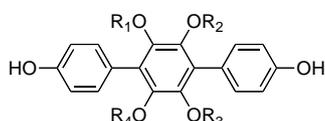
カルボニル炭素を介した部分構造間の相対立体化学を議論する場合には個別に左右の部分構造に関して JBCA 法などを適用し部分構造内の相対配置を決定し、ケトンもしくはエステルやアミドを介した二つの部分構造間の 2 種の相対配置の組み合わせに関し、化学シフト値の比較を行うのが有効であると考えられた。すなわち CAST/CNMR の利用である。この際比較するデータが必要である事が重要かつ応用研究の制限になる。適用範囲を広げるためにカルボニルを含有する化合物のデータの収集およびデータベースの拡充を行った。様々な天然物有機化合物およびそれらの合成中間体も含めデータを充実させることとし、この間に幾つかの構造訂正を行った。例としては、10 員環の環状ケトンおよびエーテルを有するフォモプシン B の構造 (12) を全合成および詳細な NMR データの解析により、鎖状構造である化合物 (13) と構造訂正し、水酸基の絶対配置は R と決定した。この構造訂正のきっかけは NMR の化学シフト値と 2 箇所のカルボニル炭素の  $\alpha$  位の分裂パターンであった。



この構造訂正の過程で化合物 (13) の文献値と NMR データを比較する為に様々な溶媒で  $^{13}\text{C}$ -NMR を測定したが、カルボニル炭素および芳香環部分を中心に大きなシフト差が観測された。ケトンのオルト位の水酸基の付け根の場合、重クロロホルム中

で 164.5ppm であったが、重 DMSO 中で 157.4ppm(シフト差 7.1ppm)と大きく高磁場シフトする現象を見出した。一般にシフト値の比較に基づいて構造決定を行う場合、同じ測定溶媒を用いることが望ましいが、カルボニル炭素を含む化合物の場合にはより測定条件に気をつける必要があることが示唆された。

この他、構造訂正研究としては、全合成したテルフェニル系天然有機化合物である、バイアリニン A(14)とその異性体である化合物(15)および(16)、テレファンチン G の報告されていた構造(18)と構造訂正した構造(17)あるいはテレストリン B(20)などの NMR データに基づき、関連する化合物である多くのテレファンチン類とカーティシアン類の構造を、テレファンチン G と同様にエステルがパラ置換している構造からオルト置換に訂正する必要があることを明らかにした。



- 14  $R_1 = R_2 = \text{COCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R_3 = R_4 = \text{H}$   
 15  $R_1 = R_3 = \text{COCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R_2 = R_4 = \text{H}$   
 16  $R_1 = R_4 = \text{COCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$ ,  $R_2 = R_3 = \text{H}$   
 17  $R_1 = R_2 = p\text{-COC}_6\text{H}_4\text{OH}$ ,  $R_3 = R_4 = \text{H}$   
 18  $R_1 = R_3 = p\text{-COC}_6\text{H}_4\text{OH}$ ,  $R_2 = R_4 = \text{H}$   
 19  $R_1 = R_4 = p\text{-COC}_6\text{H}_4\text{OH}$ ,  $R_2 = R_3 = \text{H}$   
 20  $R_1 = R_2 = \text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_3$ ,  $R_3 = R_4 = \text{H}$

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 10 件)

- (1) Yuko Izuchi, Hiroyuki Koshino, Yayoi Hongo, Nobuhiro Kanomata, Shunya Takahashi, Synthesis and structural revision of phomopsin B, a novel polyketide carrying a 10-membered cyclic-ether ring, *Org. Lett.* in press, 査読有
- (2) Shunya Takahashi, Yayoi Hongo, Yue Qi Ye, Hiroyuki Koshino, Simple and efficient synthesis of highly functionalized cyclohexanes; formal total synthesis of ovalicin and fumagillin, *Tetrahedron: Asymmetry*, 22, 703-707 (2011), 査読有
- (3) Yuko Izuchi, Nobuhiro Kanomata, Hiroyuki Koshino, Yayoi Hongo, Tadashi Nakata, Shunya Takahashi, Formal total synthesis of aspergillide A, *Tetrahedron: Asymmetry*, 22, 246-251 (2011), 査読有
- (4) Yue Qi Ye, Hiroyuki Koshino, Naoki Abe, Shunya Takahashi, Synthesis of atromentin and its *O*-alkylated natural products, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74, 2342-2344 (2010), 査読有
- (5) Kenji Shimomura, Hiroyuki Koshino, Arata Yajima, Noriko Matsumoto, Shunsuke

Yajima, Kanju Ohsawa, A new sesquiterpenoid produced by female *Callosobruchus rhodesianus* (Pic): a possible component of the sex attractant pheromone, *Tetrahedron Lett.*, 51, 6860-6862 (2010), 査読有

(6) Yue Qi Ye, Hiroyuki Koshino, Jun-ichi Onose, Kunie Yoshikawa, Naoki Abe, Shunya Takahashi, Studies on natural *p*-terphenyls: Total syntheses of vialinin A and terrestrin B, *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 74, 140-146 (2010), 査読有

(7) Yue Qi Ye, Hiroyuki Koshino, Jun-ichi Onose, Kunie Yoshikawa, Naoki Abe, Shunya Takahashi, Expedient synthesis of vialinin B, an extremely potent inhibitor of TNF- $\alpha$  production, *Org. Lett.*, 11, 5074-5077 (2009), 査読有

(8) Yue Qi Ye, Hiroyuki Koshino, Jun-ichi Onose, Chiemi Negishi, Kunie Yoshikawa, Naoki Abe, Shunya Takahashi, Structural revision of telephantin G by total synthesis and the inhibitory activity against TNF- $\alpha$  production, *J. Org. Chem.*, 74, 4642-4645 (2009), 査読有

(9) Shunya Takahashi, Ryotaro Takahashi, Yayoi Hongo, Hiroyuki Koshino, Kazunori Yamaguchi, Taeko Miyagi, Synthesis of all possible isomers corresponding to the proposed structure of montanacin E, and their antitumor activity, *J. Org. Chem.*, 74, 6382-6385 (2009), 査読有

(10) Shunya Takahashi, Yayoi Hongo, Yuki Tsukagoshi, Hiroyuki Koshino, Structure determination of montanacin D by total synthesis, *Org. Lett.*, 10, 4223-4226 (2008), 査読有

[学会発表] (計 4 件)

- (1) 越野広雪, NMRによる構造解析法の開発と構造訂正における合成の重要性, 藪田セミナー「天然物有機化合物を起点とした化学生物学の新展開」, 2010年6月18日, 札幌
- (2) 越野広雪, 高橋俊哉, 佐藤寛子, CAST/CNMRの構造訂正への応用(第4報), 日本農芸化学会2010年度大会, 2010年3月28日, 東京
- (3) 越野広雪, 叶躍奇, 高橋俊哉, 佐藤寛子, CAST/CNMRシステムと合成による天然有機化合物の構造訂正, 第48回NMR討論会, 2009年11月10日, 福岡
- (4) 越野広雪, 高橋俊哉, 佐藤寛子, CAST/CNMRの構造訂正への応用(第3報), 日本農芸化学会2009年度大会, 2009年3月28日, 福岡

## 6. 研究組織

- (1) 研究代表者  
 越野 広雪 (KOSHINO HIROYUKI)  
 独立行政法人理化学研究所・物質構造解析チーム・チームヘッド  
 50321758