

令和 6 年 6 月 2 日現在

機関番号：13901

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2022～2023

課題番号：22K20571

研究課題名(和文) 硝化抑制物質ブラキアラクトンの詳細な構造活性相関研究による単純化アナログの創出

研究課題名(英文) Creation of a simplified analog of the nitrification inhibitor brachialactone through detailed structure-activity relationship

研究代表者

宮坂 忠親 (Miyasaka, Tadachika)

名古屋大学・生命農学研究科・助教

研究者番号：80961630

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、硝化抑制物質ブラキアラクトンの合成と構造活性相関による単純化アナログの創出を目指した。ブラキアラクトンを合成する上で最重要課題である8員環構築は、サイクロオクタチンの生合成機構を模倣したシクロプロパンを有する7員環中間体の環拡大反応により行うことを計画した。鍵反応、前駆体の合成に向けて、(-)-リモネンからジアゾケトン中間体を合成したが、ジアゾケトン中間体合成の収率が低いこと、およびジアゾケトン中間体が不安定であることから本合成ルートを断念し、新たな合成計画に従い研究を進めることとした。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近代農業では、農地に多量投入されたアンモニア態窒素肥料が土壌細菌により硝化されることで、深刻な環境問題を引き起こしている。そのため、適切に硝化を制御する方法が求められている。ブラキアラクトンは硝化を強力に抑制することから、新たな硝化抑制剤としての開発が期待される。そこで本研究では、ブラキアラクトンおよび類縁体の合成法の確立を目指した。しかし、当初計画した合成法では、鍵となる反応の前駆体を得ることが困難であるということが分かった。これらの結果はブラキアラクトンの新たな合成法を計画する上での重要な知見になる。

研究成果の概要(英文)：In this study, I aimed to synthesize the nitrification inhibitor brachialactone and to create a simplified analog by structure-activity relationship. Inspired from a proposed biosynthetic mechanism of cyclooctatin, I planned the construction of eight-membered ring of brachialactone by ring expansion reaction of seven-membered ring bearing cyclopropane. Toward the synthesis of precursor of the key reaction, I synthesized diazoketone intermediate from (-)-limonene. However, due to the low yield of diazoketone synthesis and instability of the diazoketone, I decided to change the synthetic route.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然物 化学合成 硝化抑制 ブラキアラクトン 構造活性相関

## 様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近代農業では、農地に多量投入されたアンモニア態窒素肥料が土壌細菌により硝化(アンモニアから硝酸へ酸化)されることで、温室効果ガス排出や水質汚染など深刻な環境問題を引き起こしている。この課題に対し、過剰の硝化を適切に制御する方法が強く求められている。2009年に、Subbaraoらは熱帯牧草 *Brachiaria humidicola* の生育環境では硝化が抑制されるという現象に注目して、この牧草の根浸出液から硝化を強力に抑制する物質ブラキアラクトンを単離した (Figure 1)<sup>1)</sup>。ブラキアラクトンは、強力に硝化を抑制する(80%硝化抑制濃度: 11  $\mu\text{M}$ )ことから、新たな硝化抑制剤として期待が持たれるが、天然からの単離量はごくわずかであり、また化学合成による供給もその構造の複雑さから現実的ではない。一方、2020年に Rascheらは同じ牧草からブラキアラクトン類縁体 1-3を単離し、わずかな構造の違いにより硝化抑制活性が異なることを明らかにした<sup>2)</sup>。これは、詳細な構造活性相関研究により、より強力な硝化抑制活性を持つブラキアラクトン類縁体が獲得できることを示唆している。しかし、天然から得られたブラキアラクトン類縁体はこの3種のみであり、どの構造が活性発現に重要であるのかが十分に検討することができていない。

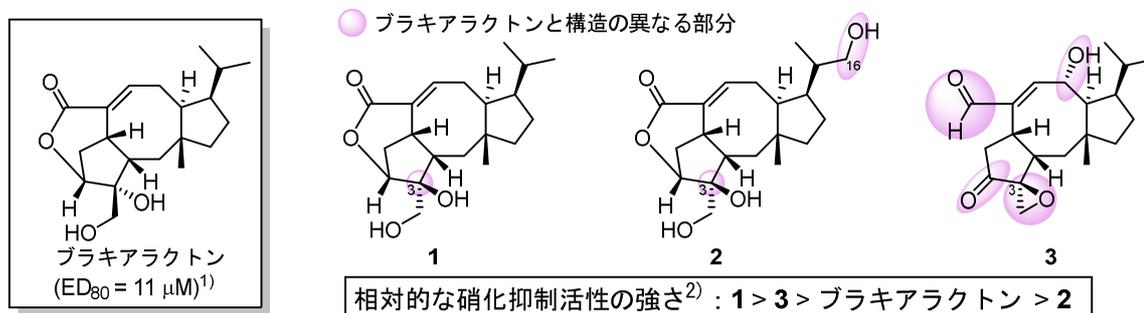


Figure 1. ブラキアラクトンとその類縁体

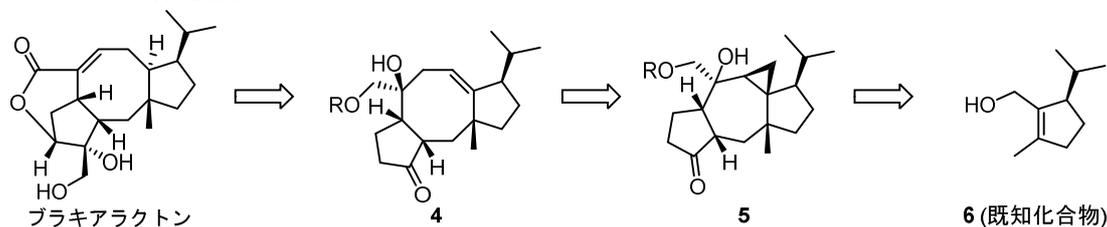
### 2. 研究の目的

そこで、本研究では有機合成を活用したブラキアラクトンの詳細な構造活性相関研究により、強力な硝化抑制活性を示すブラキアラクトンの構造単純化アナログを獲得することを目的とした。

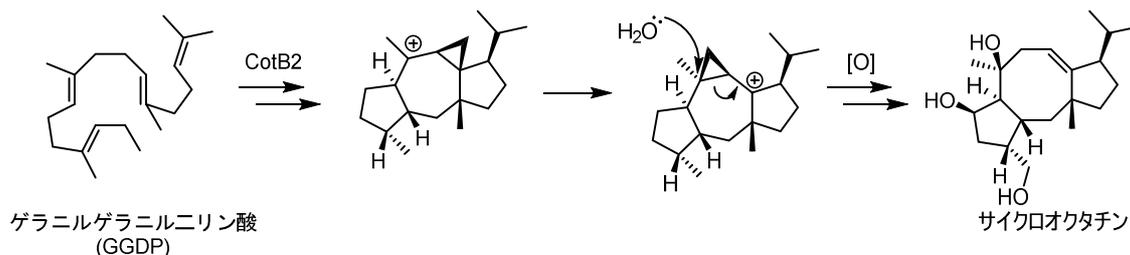
### 3. 研究の方法

詳細な構造活性相関研究に向けて、まずはブラキアラクトンの合成法の確立を目指した。ブラキアラクトンを化学合成する上で最重要となるのは8員環の構築である。そこで、近年解明されたブラキアラクトンと同様の炭素骨格を持つシクロオクタチンの生合成機構を利用し、シクロプロパンを有する7員環中間体の環拡大反応により8員環を形成させることを考案した (Scheme 1)。ブラキアラクトンは化合物 4 より合成できると考え、4はシクロプロパンを有する5の環拡大反応により合成することとした。化合物5は既知化合物であるアルコール6より合成する計画を立てた。

### ブラキアラクトンの合成計画



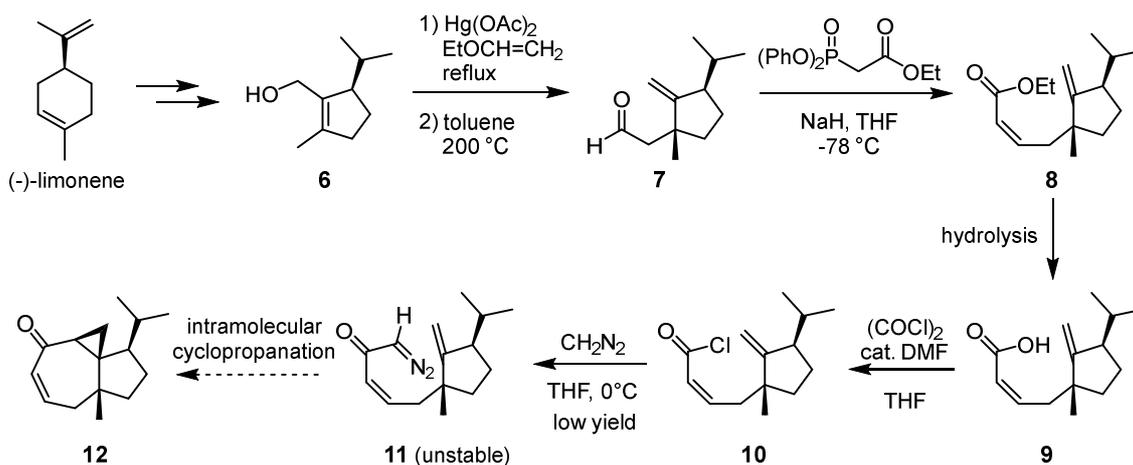
### サイクロオクタチンの推定生成機構



**Scheme 1. ブラキアラクトンの合成計画とサイクロオクタチンの推定生成機構**

## 4. 研究成果

(-)-リモネンから既知の方法で合成したアルコール **6** に対して、Claisen 転位反応を行うことでアルデヒド **7** を得た。次に、安藤試薬を用いた Z 体選択的 Horner-Wadsworth-Emmons 反応によるオレフィン化により、不飽和エステル **8** を合成した。エチルエステルの加水分解により **9** を得た後、酸塩化物 **10** へと変換した。これにジアゾメタンを作用させることでジアゾケトン **11** を低収率ながら合成した。その後、分子内シクロプロパン化による 7 員環形成を検討しようと考えたが、ジアゾケトン **11** 合成の収率改善が困難であること、およびジアゾケトン **11** が不安定であることからこの合成ルートを断念することとした。



**Scheme 2. 分子内シクロプロパン化による 12 合成の試み**

今後はブラキアラクトンの環を段階的に構築する方法ではなく、A 環セグメントと C 環セグメントを直接連結させることで最重要課題である 8 員環(B 環)構築を行い、ブラキアラクトンおよびその類縁体の合成を目指す。

- 1) Subbarao, G. V. *et al. Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **2009**, *106*, 17302.
- 2) Rasche, F. *et al. Plant Physiol. Biochem.* **2020**, *154*, 491.

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Nishiumi Masafumi, Miyasaka Tadachika, Adachi Masaatsu, Nishikawa Toshio	4. 巻 87
2. 論文標題 Total Syntheses of the Proposed Biosynthetic Intermediates of Tetrodotoxin Tb-210B, Tb-226, Tb-242C, and Tb-258	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 9023 ~ 9033
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.2c00704	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Miyazaki Kairi, Suo Rei, Itoi Shiro, Hirota Junji, Adachi Masaatsu, Miyasaka Tadachika, Nishikawa Toshio, Yokoyama Takehiko, Sato Shigeru, Takada Kentaro	4. 巻 237
2. 論文標題 5, 6, 11-trideoxy tetrodotoxin attracts tiger puffer Takifugu rubripes	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 Toxicon	6. 最初と最後の頁 107539 ~ 107539
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.toxicon.2023.107539	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 宮崎海成、周防玲、糸井史郎、廣田順二、安立昌篤、宮坂忠親、西川俊夫、佐藤繁、高田健太郎
2. 発表標題 テトロドトキシン類縁体によりトラフグ誘引活性の解明
3. 学会等名 第65回天然有機化合物討論会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 宮坂忠親、西川俊夫
2. 発表標題 4,9-アンヒドロ-10-ヘミケタール-5-デオキシテトロドトキシンの合成研究
3. 学会等名 第39回有機合成化学セミナー
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 山口耀司、宮津怜奈、宮坂忠親、西川俊夫
2. 発表標題 Physalin類の合成研究
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 菱木健太、山口将司、小野義貴、宮坂忠親、西川俊夫
2. 発表標題 シクロオクチンの新規合成法の開発
3. 学会等名 日本農芸化学会2024年度大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 Tadachika Miyasaka, Masaatsu Adachi, Yuta Kudo, Keita Sugimoto, Mari Yotsu-Yamashita, Toshio Nishikawa
2. 発表標題 Synthetic studies on the proposed biosynthetic intermediates of tetrodotoxin
3. 学会等名 The 15th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-15) (国際学会)
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------