

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：13901

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07410

研究課題名(和文)ラジカル反応を機軸としたジャガイモシスト線虫孵化促進物質の合成研究

研究課題名(英文) Synthetic study on a bioactive natural product, the most active hatching agent of potato cyst nematodes by radical cyclization

研究代表者

安立 昌篤 (Adachi, Masaatsu)

名古屋大学・生命農学研究科・助教

研究者番号：80432251

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、植物寄生性農害虫であるジャガイモシスト線虫の孵化機構において重要な因子であり、高度に歪んだシクロブタンを含むソラノエクレピンAの合成研究を行った。4-exo-trig型ラジカル環化による炭素-炭素結合反応を機軸として、多官能基化されたシクロブタン骨格の合成法を確立する同時に、ソラノエクレピンAの特異なシクロブタン構造と活性発現の関係を明らかにするための合成的基盤を確立した。

研究成果の概要(英文)：Synthesis of solanoclepin A, the most active hatching agent of potato cyst nematode isolated from hydroponic potato cultures was examined not only for the chemical supply of solanoclepin A but also for the structure-activity relationship study. As a result, a tricyclic compound possessing a DEF ring of the right-hand nucleus of solanoclepin A was synthesized from Hajos-Parrish ketone through introduction of a hydroxy group at the C-15 position and construction of the highly strained cyclobutane by samarium(II)-mediated 4-exo-trig radical cyclization.

研究分野：農学

キーワード：天然物化学 有機化学 合成化学

1. 研究開始当初の背景

本研究では、ラジカル反応を鍵反応として特異な多環性骨格を効率的に合成し、生理活性の詳細が明らかにされていない希少天然有機化合物ソラノエクレピン A の化学合成を目的としている。ソラノエクレピン A は、1986 年 Mulder らによってジャガイモ水耕栽培液からジャガイモシスト線虫に対する強力な孵化活性を持つ化合物として単離され、さらに 1999 年 Schenk らにより X 線結晶構造解析によって決定された。このようなジャガイモシスト線虫に対する強力な孵化活性を利用して、宿主であるジャガイモが存在しない時期にソラノエクレピン A を利用してシスト線虫を孵化させ、駆除する方法には大きな期待が寄せられている。しかし、天然から極微量しか得ることができないため、詳細な生理活性やジャガイモシスト線虫の特異な生態機能に関する研究は現在も進展していない。そのため、化学合成によりソラノエクレピン A を合成して、孵化機構解明のための量的供給が必要不可欠であった。

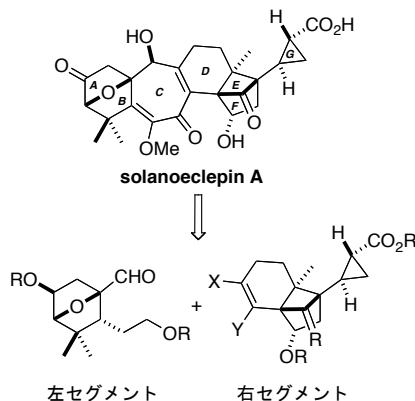
2. 研究の目的

本研究では、生理活性の詳細が明らかにされていないソラノエクレピン A に着目して、高度に歪んだシクロブタン骨格の構築法の開発とソラノエクレピン A の合成を行う目的とした。ソラノエクレピン A は、三員環から七員環までの全ての炭素環から構成された非常に特異な化学構造を有している。特に、生理活性発現に必須であると考えられる右側部分は、連続する不斉四級炭素を含み高度に歪んだシクロブタンからなるトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカン構造であるため、その合成は極めてチャレンジングである。

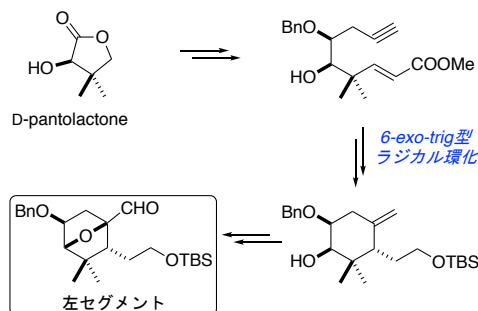
既に我々は、ソラノエクレピン A の合成において最も困難であると予想されるシクロブタン骨格構築に焦点を絞り種々検討した結果、Hajos-Parrish ケトンから四段階で合成したアルデヒドに対して、SmI₂ を作用させるところ 4-exo-trig 型ラジカル共役付加反応が速やかに進行し、トリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカン骨格の構築に成功している(研究方法参照、*Chem. Lett.* **2012**, *41*, 287)。そこで本研究では、確立した共役付加による 4-exo-trig 型ラジカル環化反応および橋頭位のラジカルによる炭素-炭素結合反応を機軸として、連続する不斉四級炭素を含み高度に歪んだシクロブタンから構成されるトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカン構造の効率的な合成法の確立と同時に、ソラノエクレピン A の特異なシクロブタン構造と活性発現の関係を明らかにするための合成的基盤を形成することを目的とした。

3. 研究の方法

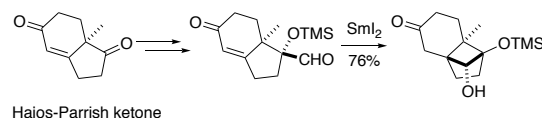
ソラノエクレピン A とその類縁体の効率的合成を可能にするため、ソラノエクレピン A の左右セグメントを個別に合成し、合成の最終段階で七員環(C 環)を構築する収束的な合成ルートを開発する。



既に、ラジカル反応の中性条件かつ高い反応性を利用して、オキサビシクロ骨格(AB 環)を持つ左セグメントの合成に成功している。D-パントラクトンから不飽和エステルを合成し、Bu₃SnH と AIBN による 6-exo-trig 型ラジカル環化反応とヨードエーテル化反応を経ることで、オキサビシクロ骨格(AB 環)を持つ左セグメントの合成に成功している(*Synlett* **2015**, 965)。



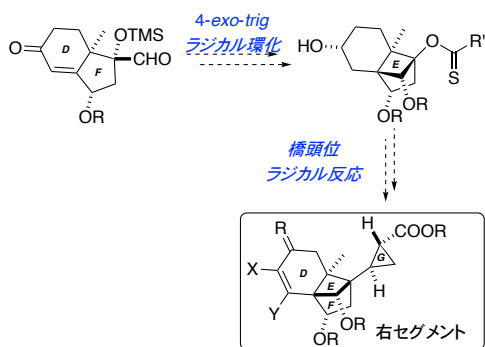
また右セグメントは、光学活性な Hajos-Parrish ケトンから四段階で合成したアルデヒド **14** に対して、SmI₂ でケチニルラジカルを発生させたところ速やかに環化反応が進行して、望むトリシクロデカンを 76% の収率で合成することに成功した。これによって、ラジカル環化によるシクロブタンの構築を鍵反応とする独自の合成法を見出すことができ、高度に歪んだシクロブタンを持つトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカン骨格の構築法を確立した(*Chem. Lett.* **2012**, *41*, 287-289)。



シクロブタン側鎖の有無や酸化度の違いはあるが、得られたシクロブタンはソラノエクレピン A の右セグメントの基本骨格であり、本反応は連続不斉中心を含み高度に歪んだ

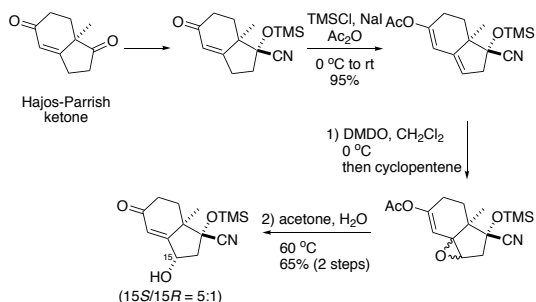
シクロブタン骨格をラジカル環化によって構築した初めての例である。

そこで、申請者が見出した *4-exo-trig* 型ラジカル反応および橋頭位のラジカルによる炭素-炭素結合反応を利用すれば、鍵中間体であり高度に官能基化された右セグメントの効率的な合成が短行程で実現できると考えた。すなわち、F環上の15位に酸素官能基を導入したアルデヒドの *4-exo-trig* 型ラジカル環化によって、シクロブタン骨格(E環)を構築し、チオカルボニル誘導体とした後、ラジカル還元剤によって反応性が高い橋頭位ラジカルを発生させることで、不斉四級炭素の構築を伴った側鎖導入を計画した。



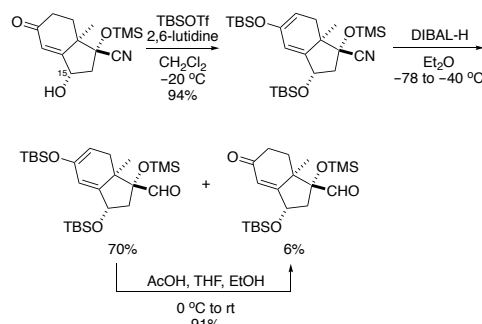
4. 研究成果

Hajos-Parrish ケトンを出発原料として、15位への水酸基導入を検討した。まず、17位ケトンにシアノヒドリン化した後、TMSCl, NaI, Ac₂O を用いてジエノールアセテートに変換した。次に、別途調製したジメチルジオキシラン(DMDO)によって末端オレフィンにエポキシ化した。一度単離したエポキシドを水とアセトンの混合溶媒で加熱還流することにより、アセチル基を加水分解してヒドロキシエノンを得ることができた。

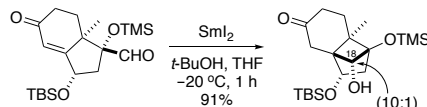


次に、ラジカル環化の前駆体であるエノン合成した。ヒドロキシエノンのエノン部位と15位水酸基をTBS基で保護した後、ジエチルエーテル中 DIBAL-H によってニトリル基を還元し、アルデヒドを収率良く得た。この際、中性シリカゲルを用いた精製によって、アルデヒドのシリルエノールエーテルが一部脱保護され、環化前駆体であるエノンも得られた。最後に、酢酸/THF/エタノールによ

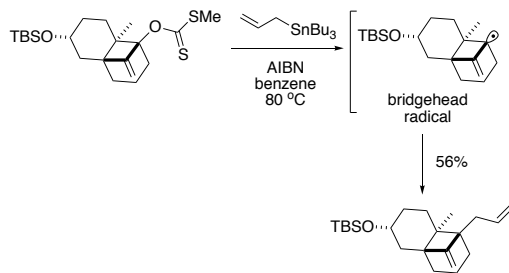
て、シリルエノールエーテルを選択的に脱保護することで、環化前駆体であるエノンに変換した。



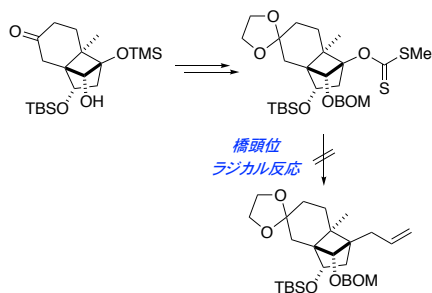
確立された方法に従い、ヨウ化サマリウムを用いたラジカル環化反応を検討した。エノンに対して、4当量のヨウ化サマリウムを-20°Cで作用させると、ラジカル環化反応は速やかに進行したが、トリシクロデカンが中程度の収率かつ10:1の比で得られた。そこで、収率の向上を目的として添加剤の効果を検討した。HMPA 用いた場合、原料は完全に消費したが収率改善には至らなかったが、*t*-BuOHを用いると他の化合物を副生することなくトリシクロデカンが高収率で得られた。



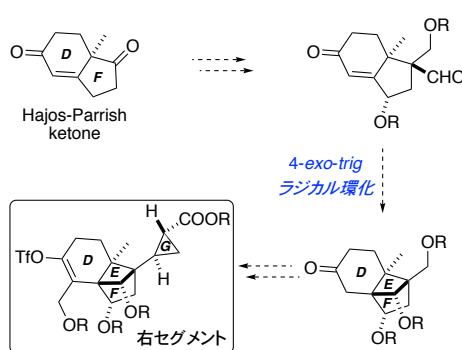
Keck アリル化反応を利用した側鎖導入を検討した。まず、橋頭位ラジカルの反応性を検証するため、モデル化合物を用いて実験を行った。Wieland-Miescher ケトンから合成したキサンテートに対して、ラジカル開始剤である AIBN とアリルトリブチルスズを用いて Keck アリル化反応を試みた結果、中程度の収率ながら、望むアリル化体の合成に成功した。



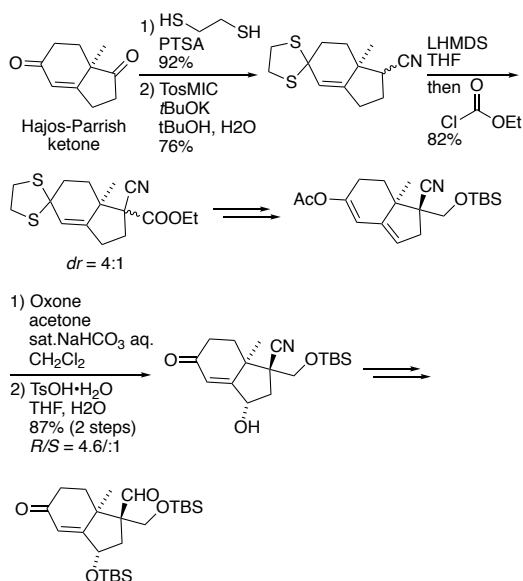
そこで、ラジカル環化で得られたトリシクロデカンを用いた Keck アリル化反応を検討した。環化体を5段階の変換によって、キサンテートに変換した。得られたに対し、ラジカル開始剤である AIBN または Et₃B とアリルトリブチルスズを用いて Keck アリル化反応を試みたが、アリル基の導入には至らなかった。



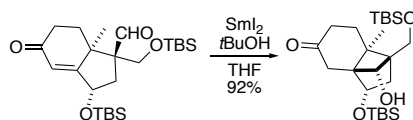
そこで、新たな右セグメントの合成を計画した。Hajos-Parrish ケトンを出発原料として、予め 17 位に側鎖が導入された環化前駆体を合成した後、ヨウ化サマリウムを用いたラジカル環化反応を行う。その後変換によって、高度に官能基化された右セグメントを合成する計画である。



環化前駆体の合成を検討した。Hajos-Parrish ケトンにジチオ汗タールで選択的に保護した後、TosMIC によって一段階でニトリルを導入した。次に、LHMDS とクロロ酸エチルによって側鎖を導入して、エステルを得た。15 位水酸基を導入するために、ジエノールアセテートへ変換した後、DMDO によるエポキシ化と続く加水分解によって、ヒドロキシエノンを高収率で得た。さらに、数段階の官能基変換によって、環化前駆体を合成した。



確立された方法に従い、ヨウ化サマリウムを用いたラジカル環化反応を検討した。エノンに対して、ヨウ化サマリウムと $t\text{BuOH}$ を $-20\text{ }^\circ\text{C}$ で作用させると、ラジカル環化反応は速やかに進行し、トリシクロデカンが高収率で得られた。



さらに、シクロプロパン化にも成功し、連続する不斉四級炭素を含み高度に歪んだトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカンの合成的基盤を確立した。

以上のように、本研究ではソラノエクレピン A の右側部分に相当するシクロブタンを含むトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカンの合成法の確立を目的として研究を行った。光学活性な Hajos-Parrish ケトンから合成したアルデヒドに対して、 SmI_2 を用いたラジカル環化反応を行ったところ、望むトリシクロデカンを高収率で合成することに成功した。しかし、Keck アリル化反応による側鎖導入を試みたが、アリル基の導入には至らなかった。そこで、予め 17 位に側鎖が導入された環化前駆体を合成した後、ヨウ化サマリウムを用いたラジカル環化反応を検討した結果、望むトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカンが得られた。シクロプロパン化による G 環形成も達成し、連続する不斉四級炭素を含み高度に歪んだシクロブタンから構成されるトリシクロ[5.2.1.0^{1,6}]デカン構造の効率的な合成法の確立と同時に、ソラノエクレピン A の特異なシクロブタン構造と活性発現の関係を明らかにするための合成的基盤を形成することを目的とした。

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 9 件)

1. Damjanovic, J.; Matsunaga, N.; Adachi, M.; Nakano, H.; Iwasaki, Y. Facile Enzymatic Synthesis of Phosphatidylthreonine Using an Engineered Phospholipase D. *Eur. J. Lipid Sci. Technol.* **2018**, 120, 1800089-1800095. (査読有) DOI: 10.1002/ejlt.201800089
2. Tsukamoto, T.; Chiba, Y.; Wakamori, M.; Yamada, T.; Tsunogae, S.; Cho, Y.; Sakakibara, R.; Imazu, T.; Tokoro, S.; Satake, Y.; Adachi, M.; Nishikawa, T.; Yotsu-Yamashita, M.; Konoki, K. Differential Binding of Tetrodotoxin and its Derivatives to Voltage-sensitive Sodium Channel Subtypes ($\text{Na}_v1.1$ to $\text{Na}_v1.7$). *Br. J. Pharmacol.* **2017**, 174, 3881-3892. (査読)

- 有) DOI:10.1111/bph.13985
3. Adachi, M.; Miyasaka, T.; Hashimoto, H.; Nishikawa, T. One-step Transformation of Trichloroacetamide into Isonitrile. *Org. Lett.* **2017**, *19*, 380-383. (査読有) DOI: 10.1021/acs.orglett.6b03583
 4. Inoue, A.; Adachi, M.; Damjanovic, J.; Nakano, H.; Iwasaki, Y. Direct Enzymatic Synthesis of 1-Phosphatidyl- β -D-glucose by Engineered Phospholipase D. *Chemistryselect* **2016**, *1*, 4121-4125. (査読有) DOI: 10.1002/slct.201600839
 5. Adachi, M.; Miyazawa, Y.; Nishikawa, T. Improved Syntheses of (+)-Iridomyrmecin and (-)-Isoiridomyrmecin, Major Components of Matatabilactone. *Nat. Prod. Commun.* **2016**, *11*, 883-886. (査読有)
 6. 安立昌篤 : 分子内 C-グリコシル化反応を利用した Polygalolide A の全合成。有機合成化学協会誌 **2015**, *73*, 607-615. (査読有)
 7. Toshio Nishikawa, Daisuke Urabe, Masaatsu Adachi, Minoru Isobe : Multifunctionality of the N-Trichloroacetyl Group Developed in the Synthesis of Tetrodotoxin, a Puffer Fish Toxin. *Synlett* **2015**, *26*, 1930-1939. (査読有) DOI: 10.1055/s-0034-1380781
 8. Adachi, M.; Torii, M.; Nishikawa, T. Stereocontrolled Synthesis of ABC-Tricycle of Solanoclepin A. *Synlett* **2015**, 965-969. (査読有) DOI:10.1055/s-0034-1380399
 9. Adachi, M.; Nakajima, M.; Isobe, M. Asymmetric Synthesis of 3-Azide-4-fluoro-L-phenylalanine. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* **2015**, *79*, 707-709. (査読有) DOI:10.1080/09168451.2014.997185

[学会発表] (計 26 件)

1. 野口能寿、榊原 良、佐竹佳樹、安立昌篤、西川俊夫、山本直之、阿部秀樹 : クサフグ(*Takifugu niphobles*)におけるフグ毒類縁体に対する嗅覚感知機構。平成 30 年度日本水産学会 (東京) **2018.3.26-2018.3.30**.
2. 中東亮太、安立昌篤、野口能寿、山本直之、阿部秀樹、西川俊夫 : テトロドトキシンのフグ誘引活性の解明を目的とした類縁体の合成研究。日本農芸化学会 **2018 年度大会 (名古屋)** **2018.3.15-2018.3.18**.
3. 幸木謙典、宮澤 悠、駒田武馬、安立昌篤、西川俊夫 : ジャガイモシスト線虫孵化促進物質ソラノエクレピン A の右側部分の合成研究。日本農芸化学会 **2018 年度大会 (名古屋)** **2018.3.15-2018.3.18**.
4. 宮坂忠親、安立昌篤、杉本敬太、山下まり、西川俊夫 : テトロドトキシンの推定

- 生合成中間体の化学合成研究。日本農芸化学会 **2018 年度大会 (名古屋)** **2018.3.15-2018.3.18**.
5. 幸木謙典、宮澤 悠、駒田武馬、安立昌篤、西川俊夫 : ジャガイモシスト線虫孵化促進物質ソラノエクレピン A の右側部分の合成研究。第 48 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会 (岐阜) **2017.11.11-2017.11.12**.
 6. 宮坂忠親、安立昌篤、西川俊夫 : フグ毒テトロドトキシンの推定生合成中間体の化学合成研究。日本農芸化学会中部支部 **180 回例会 (名古屋)** **2017.10.7**.
 7. 野口能寿、榊原 良、佐竹佳樹、安立昌篤、西川俊夫・山本直之、阿部秀樹 : 蛍光デキストランを利用した匂い刺激に応答するクサフグ嗅上皮細胞の同定。日本動物学会第 **88 回富山大会 (富山)** **2017.9.21-2017.9.23**.
 8. 宮坂忠親、橋本穂果、安立昌篤、西川俊夫 : トリクロロアセトアミドからイソニトリルへの新規な一段階変換反応。日本農芸化学会 **2017 年度大会 (京都)** **2017.3.17-2017.3.20**.
 9. Noguchi, Y.; Sakakibara, R.; Satake, Y.; Adachi, M.; Yamamoto, N.; Nishikawa, T.; Abe, H. Can Grass Pufferfish (*Takifugu Niphobles*) Sniff "Tetrodotoxins"?. The 22nd International Congress of Zoology and The 87th Meeting of The Zoological Society of Japan Joint Events (Okinawa, Japan) **2016.11.14-2016.11.19**.
 10. 宮坂忠親、橋本穂果、安立昌篤、西川俊夫 : トリクロロアセトアミドからイソニトリルへの新規な一段階変換反応。第 47 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会 (豊橋) **2016.11.5-2016.11.6**.
 11. 野口能寿、榊原 良、佐竹直樹、安立昌篤、西川俊夫、山本直之、阿部秀樹 : クサフグは TTX を匂いとして感知できるか?。第二回ユニークな少数派実験動物を使う若手が最先端アプローチを勉強する会 (岡崎) **2016.8.21-2016.8.22**.
 12. 塚本匡顕、千葉雪絵、安立昌篤、榊原 良、所 聖太、今津拓也、佐竹佳樹、長 由扶子、西川俊夫、山下まり、此木敬一 : 電位依存性ナトリウムチャンネルに対するテトロドトキシンの阻害活性評価。日本農芸化学会 **2016 年度大会 (札幌)** **2016.3.27-2016.3.30**.
 13. 室岡孝信、宮澤 悠、安立昌篤、山下哲郎、西川俊夫、宮崎雅雄 : ネコにマタタビ反応を誘発する新規活性物質の同定。日本農芸化学会 **2016 年度大会 (札幌)** **2016.3.27-2016.3.30**.
 14. 長谷川耕太、鳥居真衣、安立昌篤、西川俊夫 : ジャガイモシスト線虫孵化促進物質ソラノエクレピン A 左側部分の合成研究。日本農芸化学会 **2016 年度大会 (札幌)** **2016.3.27-2016.3.30**.

15. 植木佳織、樋口恵子、安立昌篤、西川俊夫:セスペンドール芳香環部分の光学活性体の合成研究。日本農芸化学会 2016 年度大会 (札幌) 2016.3.27-2016.3.30.
16. 岩瀬翔太郎、堀田貴大、安立昌篤、西川俊夫:8-*epi* テトロドトキシンの合成研究。日本農芸化学会 2016 年度大会 (札幌) 2016.3.27-2016.3.30.
17. 宮澤 悠、駒田武馬、安立昌篤、西川俊夫:ジャガイモシスト線虫孵化促進物質ソラノエクレピン A 右側部分の合成研究。日本農芸化学会 2016 年度大会 (札幌) 2016.3.27-2016.3.30.
18. 井上ありさ、安立昌篤、ダムナニュービッチ ヤスミナ、岩崎雄吾:酵素による 1-ホスファジル-β-D-グルコースの合成。第 6 回学際的脂質創生研究部会講演会 (富山) 2016. 1. 22.
19. Toshio Nishikawa, Yoshiki Nakane, Atsuo Nakazaki, Takuya Imazu, Shouta Tokoro, Ryo Sakakibara, Masaatsu Adachi, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita : Synthesis and biological activities of guanidine-containing natural products. The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem 2015) (Honolulu, Hawaii, USA) 2015.12.15-2015.12.20.
20. Toshio Nishikawa, Yoshiki Nakane, Atsuo Nakazaki, Takuya Imazu, Shouta Tokoro, Ryo Sakakibara, Masaatsu Adachi, Keiichi Konoki, Mari Yotsu-Yamashita : Synthesis of biologically active steroid-derived compounds from an edible mushroom. The International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (Pacifichem 2015) (Honolulu, Hawaii, USA) 2015.12.15-2015.12.20.
21. 宮澤 悠、駒田武馬、安立昌篤、西川俊夫:ジャガイモシスト線虫孵化促進物質ソラノエクレピン A の右側部分の合成研究。第 46 回中部化学関係学協会支部連合秋季大会 (津) 2015.11.7-2015.11.8.
22. 塚本匡顕、千葉雪絵、長 由扶子、安立昌篤、榊原 良、所 聖太、今津拓也、中崎敦夫、石川裕生、西川俊夫、山下まり、此木敬一:電位依存性ナトリウムチャンネルに対するテトロドトキシンのおよび類縁体の活性阻害評価。日本農芸化学会東北支部第 150 回大会 (仙台) 2015.10.3.
23. 井上ありさ、安立昌篤、ダムナニュービッチ ヤスミナ、岩崎雄吾:1-ホスファジル-β-D-グルコースの酵素合成。2015 年度日本農芸化学会中部・関西支部合同大会 (富山) 2015. 9. 19-2015. 9. 20.
24. 井上ありさ、安立昌篤、ダムナニュービッチ ヤスミナ、岩崎雄吾:1-ホスファジル-β-D-グルコースの酵素合成。生物工学若手研究者の集い (若手会) 夏のセミナー (名古屋) 2015. 7. 16-2015. 7. 17.
25. 西川俊夫、中崎敦夫、中根嘉祈、石川裕生、安立昌篤、橋本穂果、今津拓也、所聖太、榊原良、此木敬一、千葉雪絵、山下まり:ナトリウムチャンネル阻害剤の創製を目指したグアニジン系天然物の合成。日本ケミカルバイオロジー学会 第 10 回年会 (仙台) 2015.6.10-2015.6.12.
26. 西川俊夫、中崎敦夫、安立昌篤、此木敬一、山下まり:天然グアニジン化合物を基盤としたイオンチャンネル阻害剤の開発。天然物ケミカルバイオロジー~分子標的と活性制御~ 第 8 回公開シンポジウム (仙台) 2015.6.8-2015.6.9.

[その他]
ホームページ等

<http://www.agr.nagoya-u.ac.jp/~organic/>

6. 研究組織
(1) 研究代表者

安立昌篤 (ADACHI MASAATSU)
名古屋大学大学院・生命農学研究科・講師
研究者番号: 80432251