

令和元年6月12日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K01916

研究課題名(和文) 生合成仮説に立脚した海洋天然物の合成研究

研究課題名(英文) marine natural products synthesis based on the hypothesis of biosynthesis

研究代表者

市川 善康 (Ichikawa, Yoshiyasu)

高知大学・教育研究部自然科学系理工学部門・教授

研究者番号：60193439

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：生物は進化を経て、生体内の反応システムを構築し、多様な物質群を効率よく合成している。このような生体内の反応を理想的な手本として模倣するバイオミメティックな化学合成は、斬新な天然物合成法の手法として発展してきた。海洋生物由来の含窒素テルペンであるボネラタミドA, エグリジン, ハリコナジンQとMが、「生体内でUgi反応によって生合成されている」という仮説を提唱した。提唱した生合成仮説の妥当性を確認するために、メントールからモデル化合物を調製した。メントール由来のイソシアニドを用いたUgi反応によって細胞内の生理条件に酷似した中性条件でネラタミドA, エグリジン, ハリコナジンQとMの中心骨格を合成した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

低分子誘導体のライブラリーを構築する手法としてUgi反応は注目を集め、製薬やマテリアル科学の研究分野で活発に汎用されている。これに対して、「自然界が代謝産物の多様性を獲得するためにUgi反応を用いている」という仮説は、広く認知されていない。生体内のUgi反応をテーマとした研究は、これから大きく発展することが期待できる。例えば、生体内でUgi反応を司ると考えられる未知の酵素「ウギアーゼ」の探索は、未開拓の研究テーマである。さらに、「生合成に学んだ低分子誘導体のライブラリー構築」は、多成分連結反応の新展開として期待できる。

研究成果の概要(英文)：One-pot biomimetic synthesis of halichonadin Q and M, using the Ugi reaction (U-5C-4CR), were executed. A unique pathway for the biosynthesis of the marine sponge terpenes, exigurin and boneratamides A-C, is proposed. Based on these proposals, a biomimetic strategy using key Ugi coupling reactions between terpene isocyanides and amino acids was developed for construction of the core structures of exigurin, boneratamides A, halichonadin Q and M. A pathway is proposed for the biosynthesis of the unique homo-dimeric terpene, halichonadin H. The proposed biosynthesis pathway involves the two key Passerini reactions of eudesmane-type terpene isocyanides. Passerini reaction of model terpene isocyanide and formaldehyde afforded α -hydroxy acetamide, which was further subjected to oxidation and second Passerini reaction. This reaction sequence furnished α -hydroxy-malonamide that have an identical structural motif in halichonadin H.

研究分野：天然物化学

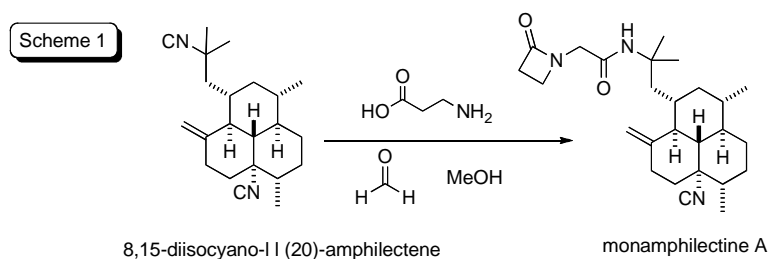
キーワード：海洋天然物 全合成 生合成 イソシアニド Ugi 反応 テルペン Passerini 反応

1. 研究開始当初の背景

研究の学術的背景：

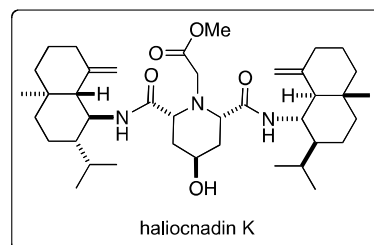
我々の研究グループは「イソシアニドを有するテルペンより、Ugi 反応によって新たなテルペンが生合成され、海洋天然物の多様性が実現されている」という仮説を提案している。因みに Ugi 反応とは、ひとつのフラスコでイソシアニド、アミン、アルデヒドあるいはケトンとカルボン酸を一挙に反応させて、生成物を得る多成分連結反応である。多種類の類縁化合物を効率的に合成できるため、低分子誘導体のライブラリーを構築する手法として Ugi 反応は注目を集めている。

研究を開始した 2012 年の段階で、Ugi 反応経由と推定された天然物の報告は、2010 年の Rodriguez の例のみであった (*Org. Lett.* **2010**, *12*, 5290)。Rodriguez はプエルトリコのモナ島で採取した海綿より、抗マラリア活性を示すモナフィレクチン A を単離した。そして、イソニトリルを持つジシアノアンフィレクチン、ホルムアルデヒドと γ -アミノ酸との Ugi 反応によって、モナフィレクチン A を合成した (Scheme 1)。



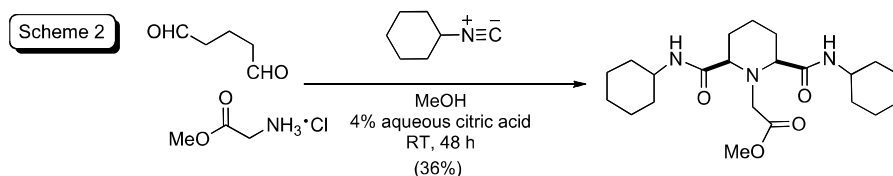
われわれの研究グループは 2003 年と 2004 年に報告されている海洋生物由来のテルペン、エグジリンとボネラタミド A に着目した (Scheme 2)。エグジリンは太田と池上によって、鹿児島県の大島で採集した海綿より単離された (*Tetrahedron*, **2003**, *59*, 731)。ボネラタミド A は、カナダのブリティッシュ・コロンビア大学の Andersen によって、微量成分として海綿より単離され、X 線結晶構造解析によって相対立体配置が決定された (*J. Nat. Prod.* **2004**, *67*, 1752)。これら二つの海洋天然物は、セスキテルペンにアミノ酸がアミド結合によって連結した特異な構造をもつ。エグジリンに関しては、(-)-10-エピアキソニトリル-3、サルコシン、ホルムアルデヒドとメタノールの Ugi-5 中心-4 成分反応 (U-5C-4CR: Ugi-five-center four-component reaction)、これに対してボネラタミド A は、アキソニトリル-3、アセトンとグルタミン酸の Ugi-4 中心-3 成分反応 (U-4C-3CR: Ugi four-center three-component reaction) による生合成仮説を提案した。そしてモデルイソシアニドを用いて、中心骨格の合成を報告した (*Synlett*, **2013**, 757)。

我々の報告と前後して北海道大学の小林等は、沖縄の運天港にて採取された海綿より、ハリコナジン K を単離した (*Org. Lett.* **2012**, *14*, 3498)。ハリコナジン K の構造は X 線によって解明され、対称的なピペリジン骨格に 2 つのテルペンが結合している構造が決定された。ハリコナジン C、グリオキザル酸とリジンより、生合成されていることが推定された。



小林の生合成仮説を参考にして Poupon 等は、グルタルアルデヒド、シクロヘキシルイソシアニドとグリシンメチルエステルを用いた Ugi 反応を行った (Scheme 2)。そして

生成物の構造をシスピペリジンとして報告した (*Eur. J. Org. Chem.*, **2013**, 453)。



2. 研究の目的

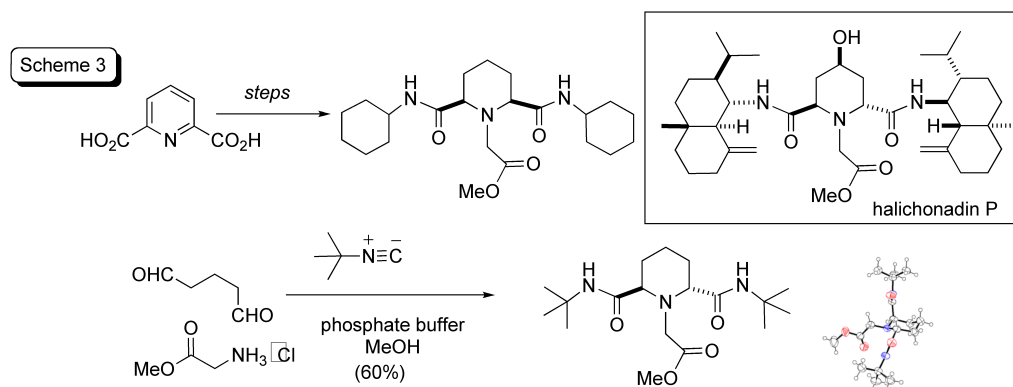
「イソシアニドを有するテルペンより、Ugi 反応によって新たなテルペンが生合成され、海洋天然物の多様性が実現されている」という仮説について、合成化学の立場より実験的に仮説の妥当性を検証することを目指した。具体的に述べると、生体内で起こっていると考えられる同様の反応を、実験室のフラスコ中で再現する。そして生合成仮説に立脚したエグジリン、ボネラタミド A とハリコナジン類の中心骨格の合成を第一の目的とした。得られた知見を基にして、更なる展開として全合成を目指した。

3. 研究の方法

メントールから調製したイソシアニドをモデル化合物として選び、Ugi 反応を用いたエグジリンとボネラタミド A の中心骨格を合成する。これによって、仮説-自然界が代謝産物の多様性を獲得するために Ugi 反応を用いている-の妥当性を検証する手法とした。得られた知見を基にして、全合成ルートの開拓を目指す方法を採用した。

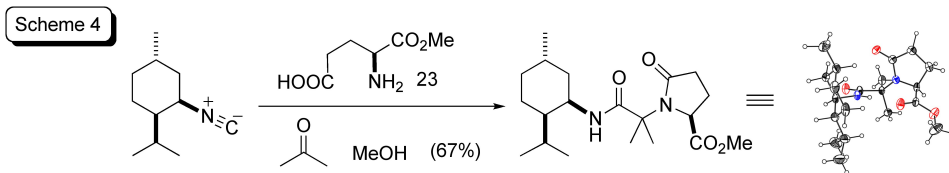
4. 研究成果

Pouopon 等が報告した Ugi 反応の生成物の NMR を綿密に解析した。この結果、生成物の構造がシスではなくトランス-ピペリジンであると推測した。推論を立証するために、シス-ピペリジンを標品として合成した (Scheme 3)。さらに *t*-ブチルイソシアニド、グルタルアルデヒドとグリシンメチルエステルを用いた Ugi 反応を行い、60%の収率で生成物を得た。構造を X 線により解析してトランス-ピペリジンである事を証明した (*Heterocycles* **2016**, 92, 857)。この Ugi 反応で得られた生成物の構造は、ハリコナジン P の中心骨格に相当する。

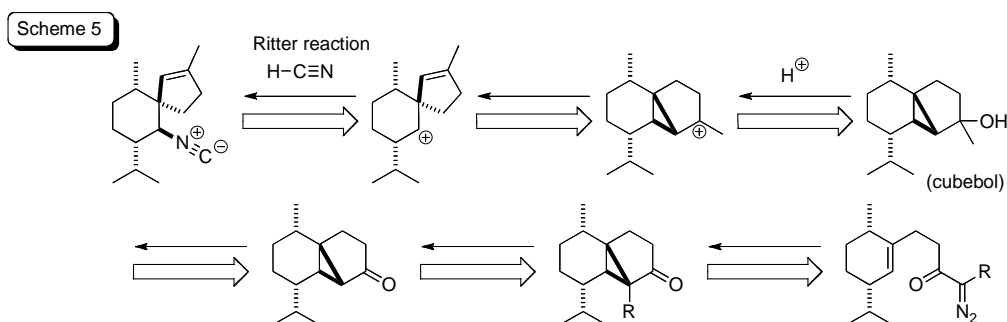


メントール由来のイソシアニド、アセトン、メチルグルタミン酸モノエステルを用いてメタノール中で Ugi 反応を行うと、ワンポットで一挙にボネラタミド A の基本骨格をもつ生成物が収率 43% で得られることを、2013 年に速報として報告した。しかしながら、生成物を NMR で解析すると、アミド結合の回転異性体による 1:1 の混合物として観測され、構造決定に不安が残った。この問題に対処するため、反応条件を検討して収率を 67% に改善した

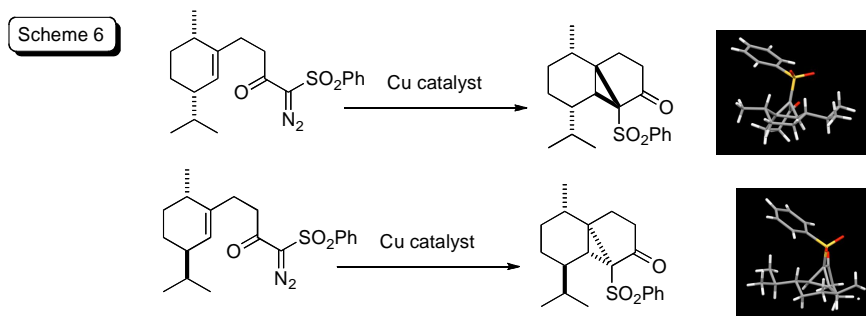
(Scheme 4)。さらに生成物を結晶として得ることができたので、X線解析によって構造を確定した (*Heterocycles*, **2016**, 92, 1040)。



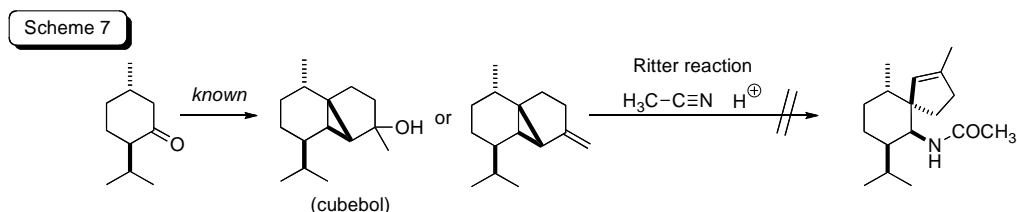
Ugi 反応の条件を確立できたので、アキソイソニトリルと(-)-10-エピアキソニトリルの合成を計画した。逆合成解析を行うに当たり、アキソイソニトリルと(-)-10-エピアキソニトリルの生合成を考察した。そしてクベボールなどから発生したカルボカチオン中間体のシクロプロパン環の開環を伴う Ritter 反応を推測した。以上の考察より、下記の(-)-10-エピアキソニトリルの逆合成解析を行った (Scheme 5)。



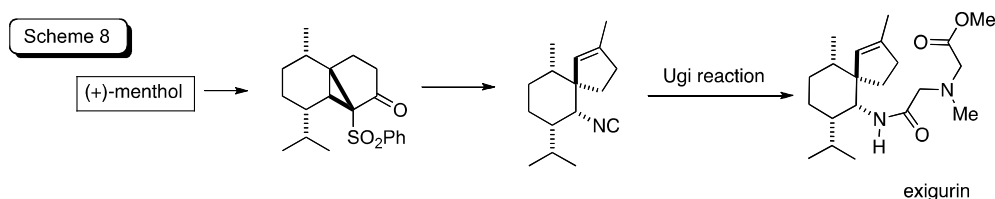
モデル化合物を用いた分子内シクロプロパン化反応を検討した (Scheme 6)。ラセミ体のメントンを出発原料として調製したジアゾケトンの分子内シクロプロパン化反応を行い、ほぼ単一の生成物を収率 40–50% で得た。立体化学はX線解析によって決定して、所望の立体化学を有することを確認した。



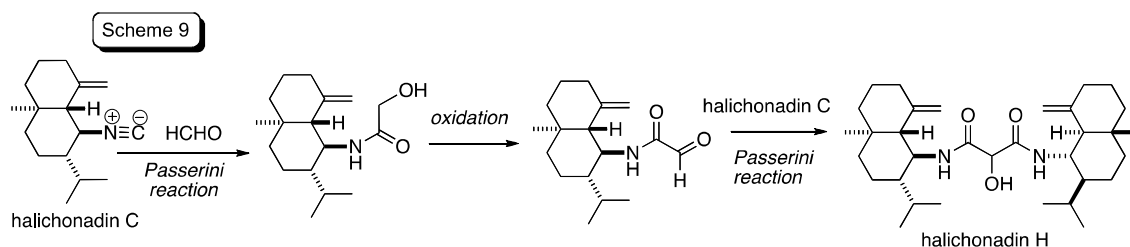
分子内シクロプロパン化反応のルートと平行して、鍵反応となる Ritter 反応を検討した (Scheme 7)。カルボンを出発原料として、Fehrr と Furstner のルートを用いてクベボールあるいはクベベンを合成した。アセトニトリルを用いた Ritter 反応を検討したが、目的とする生成物を得ることはできなかった。



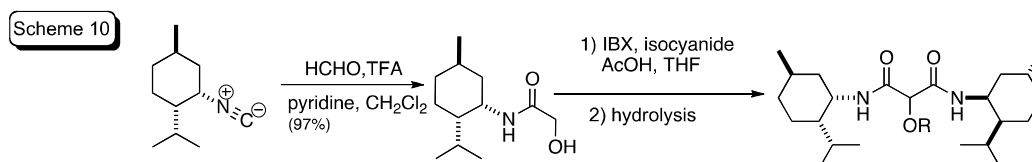
研究の途中で、東大農学部の渡邊教授が、同様のシクロプロパン中間体を經由してエグジアミドを合成していることを知った。渡邊教授に問い合わせたところ、「最初の合成ルートとして Ritter 反応を検討したが、目的とする生成物を得ることができなかった。そこでルートを変更してシクロプロパン環をアジドイオンで開環する経路を採用した」と、伺った。この段階で、Ritter 反応を用いて窒素官能基を導入する経路を断念して、渡邊教授のルートを参考にして合成を進めることにした。この時点で、通勤途中の市川の転倒事故により、研究の続行が困難となった。そこで早稲田大学の細川誠二郎先生に研究分担者として参画を請い、協同で研究をすすめた。そして Ugi 反応を用いたイグジグリンの合成に成功した (Scheme 8, 日本化学会第 99 春季年会にて発表)。現在、収率の向上と論文投稿のためのデータを集めている。



研究の途中で、海道大学の小林等によって 2010 年に報告された海洋天然物ハリコナジン H に着目した。そしてハリコナジン H が、ハリコナジン C とホルムアルデヒドとの Passerini 反応を用いる生合成経路由来の代謝産物である仮説を提案した (Scheme 9)。



仮説の妥当性を検証するために、メントールから誘導したテルペンイソシアニドとホルムアルデヒドを出発原料として、Passerini 反応を 2 回繰り返した (Scheme 10)。これによって、 α -オキシマロン酸に等価な二つのテルペンが結合したハリコナジン H の中心骨格の合成に成功した (*Synthesis*, 2019, 印刷中)。



当初は、奇妙な構造のハリコナジン H に関する生合成について全くの不明であり、構造決定の妥当性さえも疑っていた。数年経過したところ、Passerini 反応経路が心に浮かび上がり、研究テーマとしてハリコナジン H の中心骨格の合成を取り上げた。Passerini 反応は歴史が古く、いろいろな反応条件が報告されている。このため円滑に実験を進めることができ、短い期間で論文を投稿することができた。科研費を申請した時の計画に無

かった研究である。Ugi 反応だけでなく , Passerini 反応も生合成反応として , 海洋生物が採用していることは驚きであった。

5 . 主な発表論文等

[雑誌論文](計8件)

1. Ichikawa, Y.; Yamasaki, T.; Nakanishi, K.; Udagawa, Y.; Hosokawa, S.; Masuda, T. *Synthesis* **2019**, in press. (査読有)
2. The Dawn, Evolution and Personal Reminiscences in Studies of Glycosyl Isocyanates and Isocyanides, Ichikawa, Y. *Heterocycles* **2018**, *96*, 1691-1728. (査読有)
3. Nunokawa, S.; Oki, K.; Yamashita, K.; Okuyama, A.; Ueda, T.; Nakano, K.; Ichikawa, Y.; Kotsuki, H., Heteropoly Acid Supported on Silica Gel as Catalyst for the Asymmetric Transfer Allylation of Aromatic Aldehydes under Solvent-Free Conditions. *Synlett* **2017**, *28*, 597-600. (査読有)
4. Nomoto, Y.; Horinouchi, R.; Nishiyama, N.; Nakano, K.; Ichikawa, Y.; Kotsuki, H., Trityl Cation Catalyzed Intramolecular Carbonyl-Ene Cyclization and [2+2] Cycloaddition. *Synlett* **2017**, *28*, 265-269. (査読有)
5. Ichikawa, Y.; Matsukawa, A.; Maeda, M.; Tomishige, H.; Tomita, Y.; Mimura, R.; Kitamori, A.; Kotsuki, H.; Nakano, K.; Masuda, T., Synthesis of β -Glycosyl Formamides Through N-Glycosylation of Unprotected Carbohydrates. *Heterocycles* **2016**, *92*, 2201-2212. (査読有)
6. Matsugi, A.; Nunokawa, S.; Watanabe, N.; Nakata, Y.; Nakano, K.; Ichikawa, Y.; Kotsuki, H., An Organocatalytic Asymmetric Diels-Alder Strategy for the Enantioselective Synthesis of Spirocyclic Oxindole-Cyclohexenones. *Heterocycles* **2016**, *92*, 1953-1961. (査読有)
7. Ichikawa, Y.; Saito, K.; Mimura, R.; Kitamori, A.; Matsukawa, A.; Ikeda, A.; Masuda, T.; Kotsuki, H.; Nakano, K., A Biomimetic Approach to the Synthesis of Terpene-Amino Acid Conjugates. The Ugi Reaction in the Hypothetical Biosynthesis of Marine Natural Products. *Heterocycles* **2016**, *92*, 1040-1053. (査読有)
8. Mimura, R.; Kitamori, A.; Nakano, K.; Kotsuki, H.; Matsumoto, K.; Kaneno, D.; Masuda, T.; Ichikawa, Y., Synthesis of trans-2,6-Piperidinedicarboxamide Using the Ugi Reaction. A Plausible Model for the Biosynthesis of Halichonadin P. *Heterocycles* **2016**, *92*, 857-865.(査読有)

6 . 研究組織

(1)研究分担者

研究分担者氏名：細川 誠二郎

ローマ字氏名：Seijiro Hosokawa

所属研究機関名：早稲田大学

部局名：理工学術院

職名：准教授

研究者番号(8桁)：10307712