

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 26 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2012～2014

課題番号：24310151

研究課題名(和文) 理論計算を必要としない赤外円二色性スペクトルによる新規絶対配置決定法の開発

研究課題名(英文) Development of the novel determination methodology for absolute configuration without theoretical calculation

研究代表者

門出 健次 (Monde, Kenji)

北海道大学・先端生命科学研究科(研究院)・教授

研究者番号：40210207

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 15,100,000円

研究成果の概要(和文)：赤外円二色性スペクトル(VCD)は、非経験的に分子の絶対配置を決定できる有用な方法である。しかし、そのためには、そのコンフォメーション解析を精密に行うことが必須であった。本研究において、カルボニル基等の特徴的な赤外吸収をもつ官能基間の相互作用により発生する大きな分裂型VCDに着目し、理論計算を行わずに、キラル分子の絶対配置を決定する有用な方法論を開発することに成功した。具体的な有機化合物として、糖、ステロイド、複雑な生理活性天然物、非環状化合物である生理活性脂質、また、高分子として、ポリ乳酸に対して、本方法論を応用し、その有効性を示した。

研究成果の概要(英文)：Vibrational circular dichroism (VCD) is a reliable and non-empirical method which can determine absolute configuration. However, ab initio theoretical calculation for its conformational analysis of a target molecule is essential. In this project, a new methodology for determination of absolute configuration without its theoretical calculation has been developed by utilizing a huge bisignate VCD signal caused by their interaction of two IR functional groups such as carbonyl groups in a target molecule.

This novel methodology named as "VCD exciton chirality method" has been applied to a variety of carbohydrates, steroids, complex natural products, acyclic biological active lipids, and poly lactic acid as a polymer, which shows its high applicability.

研究分野：複合領域

キーワード：VCD 絶対配置 励起き子 キラリティー カルボニル

1. 研究開始当初の背景

タンパク質などの生体高分子を制御する生理活性物質はほとんどの場合がキラルであり、分子キラル性は生命現象に本質的なものである。そのため、天然有機化合物を始めとする生理活性物質の構造研究では、化合物の絶対配置をいかにして決定するかが大きな問題の一つとなる。

赤外円二色性スペクトル(Vibrational CD: VCD)は、広く利用されている円二色性法(CD)の赤外版であり、非経験的に分子の絶対配置を決定できる。しかし、その絶対配置決定には、分子のコンフォメーション解析を精密に行うことが必須であり、このため、VCD法は非常に信頼できる方法であるにもかかわらず、大部分の有機化学者から敬遠されがちである。

一般にカルボニル基のVCDシグナルは、その大きなIR吸収と較べて、極めて弱いシグナルしか示さない。しかし、申請者のグループは、最近、キラルな環境にある二つのカルボニル基が分子内の特定の位置に存在すると、極めて強い特徴的な分裂型VCDシグナルを示すことを発見した。

複数のモデル化合物を用いて、この現象を検証したところ、極めて一般性が高い可能性が判明した。本現象は、明らかに、二つのカルボニル基の振動遷移モーメントの相互作用により現れた現象であり、二つのカルボニル基の空間的位置を反映して、単純に二つのパターン(+ - の分裂と - + の分裂)を示していた。

本原理を応用すれば、単純なVCDシグナルのパターンから、その絶対配置を決定することが可能であり、これを「VCD励起子キラル性」と命名した。本法では、複雑なDFT理論計算の必要がなく、一般の有機化学者にも大いに利用可能である。また、赤外円二色性スペクトル(VCD)が、振動領域の吸収、即ち化合物の赤外吸収を基本としてことを考慮すると、カルボニル以外の他の官能基を含む多くの分子に本法が適用できる可能性が高い。

2. 研究の目的

本研究では、この「VCD励起子キラル性」と命名した新たな方法論を確立することにより、理論計算を行うことなく、簡便かつ広範囲な分子を対象とした新規絶対配置決定法を確立することを目的としている。

具体的には、

1) 糖、ステロイド誘導体などの環状化合物に関して、今回提案する新規VCD励起子キラル性法が適用可能であるかどうか、また、二つのカルボニル基の距離と角度、対応するVCDの符号と強度の相関を得る。

2) 代表的な化合物のVCD理論計算を行い、理論的裏付けを行う。

3) セカンドメッセンジャーであるスフィンゴ脂質などの鎖状系化合物に本VCD励起子キラル性法の適用を行う。

4) カルボニル基を有する典型的な天然有機化合物及びその誘導体に対して、本法を適用する。以上のことより、新規VCD高感度絶対配置決定法の一般化を行うことを目的とする。

3. 研究の方法

1) 糖、ステロイド誘導体などの環状化合物に関して、今回提案する新規VCD励起子キラル性法が適用可能であるかどうか、また、二つのカルボニル基の距離と角度、対応するVCDの符号と強度の相関を得る。また、代表的な化合物のVCD理論計算を行い、理論的裏付けを行う。

- ヒドロキシブチロラクトン及び誘導体(Bz, AcNH等)の合成、VCD測定を行うと共に、理論計算を行い、アセチル部分のコンフォメーションが一般的に安定といわれているsynコンフォメーションであるかを検証する。比較的コンフォメーション解析が容易であり、かつ、他種類のアセチル基を有するキラル素材として糖鎖を選択する。分裂型VCD吸収の角度依存性を念頭において、二つのアセチル基が様々な角度となる、糖鎖を設計し、その合成を行う。更に、D-マンノース、D-ガラクトース、L-フコースをそれぞれ、出発原料として、2,2-ジメトキシプロパンによる選択的ジオール保護により、光学活性な糖鎖の合成を行う。合成された化合物のVCD測定を行い、正負の分裂型(又は逆)のスペクトルを確認すると共に、その強度と二つのカルボニル基の遷移モーメントの角度との関係を明らかにする。

次に、二つのカルボニル基の距離の依存性を検討するために、リジッドな分子であるステロイド誘導体を利用する。既知のステロイド誘導体から対象化合物を合成する。これまでは、同一の官能基、すなわち、二つのアセチル基を中心に行ってきたが、類縁の官能基に対しての分裂型VCDの現れ方、その挙動を観察する。それぞれの距離とVCD強度の関係を明らかとし、本法のスコープ&リミテーションを検討する。また、リジッド、かつ、二つの同一のケトンカルボニル基が二つ存在するキラルなスピロ化合物を、既知の方法によりラセミ体をとって合成し、キラルカラム法により光学分割し、光学活性体(aS), (aR)-9を得る。スピロ化合物は、コンフォメーションの揺らぎがほとんどなく、二つのカルボニル基が近距離で直角の関係にあるため、最大級のVCD強度が期待できる。

2) セカンドメッセンジャーであるスフィンゴ脂質などの鎖状系化合物に本VCD励起子キラル性法の適用を行う。

スフィンゴシンは、18個の炭素を持つ長鎖アミノジオール構造を共通構造としており、ヒト脳より最初に単離された化合物群である。これらスフィンゴ脂質類は、すべての動植物

に存続しており、膜成分、シグナル伝達機能物質など生体内において、広範かつ重要な役割を果たしている。本化合物は、二つの不斉炭素有し、天然体はすべてD-エリスロ構造といわれているが、その絶対配置の決定は、通常の方法では容易ではない。鎖状化合物への応用として、本VCD励起子キラリティー法をスフィンゴ脂質へ応用する。L-セリン誘導体を出発原料として、天然型及びスレオ型スフィンゴシン誘導体(セラミドタイプ)を合成する。また、出発原料をD-セリン誘導体とすることで、同一の合成ルートにより、鏡像体を合成し、計4つのすべての立体異性体を合成する。得られたサンプルについて、本VCD法が適用可能かどうか検討する。また、アルキル基の長さについても合成化学的に検討する。

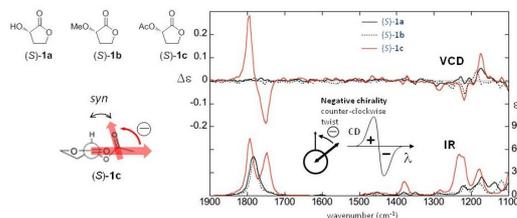
3) カルボニル基を有する典型的な天然物、医薬品及びその誘導体に対して、本法を適用する。

比較的容易に入手可能な生理活性物質として、GABA受容体ブロッカーの植物由来のピクロトキシン、抗狭心症作用を有する医薬品ジルチアゼム、抗生物質ペニシリンG、天然フラボノイドのタキシフォリン誘導体などをはじめとした複雑な化合物系に本VCD法が適用可能であることを実証し、本法が実際の複雑な天然物などの構造決定に有用であることを示す。

4. 研究成果

1) 糖、ステロイド誘導体などの環状化合物について

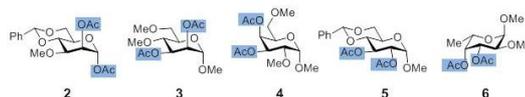
- ヒドロキシブチロラクトンアセチル体1cは、非常に強い分裂型VCDスペクトルを示している。今回、鏡像体の合成を実施、VCDが完全に逆転することを確認すると共に、1cの理論計算を実施、アセチル部分のコンフォメーションがsynコンフォメーションであることを確認した。



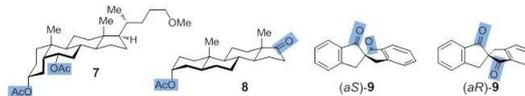
比較的コンフォメーション解析が容易であり、かつ、他種類のアセチル基を有するキラル素材として糖鎖を選択した。分裂型VCD吸収の角度依存性を念頭において、二つのアセチル基が様々な角度となる、糖鎖2~6を設計し、その合成を行った。

化合物2は、D-マンノースを出発原料として、既知のスキームに従って合成した。また、D-

グルコースを原料として、化合物5の合成を行った。D-マンノース、D-ガラクトース、L-ブコースをそれぞれ、出発原料として、2,2-ジメトキシプロパンによる選択的ジオール保護により、光学活性な3, 4, 6の合成を行った。合成された糖類のVCD測定を行い、正負の分裂型(又は逆)のスペクトルを確認すると共に、その強度と二つのカルボニル基の遷移モーメントの角度との関係を明らかにした。

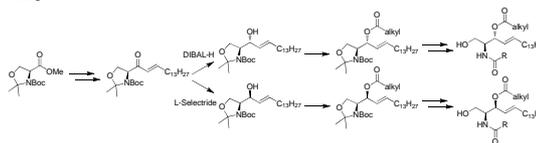


次に、二つのカルボニル基の距離の依存性を検討するために、リジッドな分子であるステロイド誘導体を利用した。既知のステロイド誘導体から化合物7, 8を合成した。それぞれの距離とVCD強度の関係を明らかとし、本法のスコープ&リミテーションを検証した。また、リジッド、かつ、二つの同一のケトンカルボニル基が二つ存在するキラルなスピロ化合物9を、既知の方法によりラセミ体をとって合成し、キラルカラム法により光学分割し、光学活性体(aS), (aR)-9を調整した。スピロ化合物9は、コンフォメーションの揺らぎがほとんどなく、二つのカルボニル基が近距離で直角の関係にあるため、最大級のVCD強度を観測することに成功した。



2) 鎖状化合物への適用

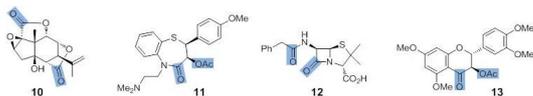
スフィンゴシンは、二つの不斉炭素有し、天然体はすべてD-エリスロ構造といわれているが、その絶対配置の決定は、通常の方法では容易ではない。鎖状化合物への応用として、本VCD励起子キラリティー法をスフィンゴ脂質へ応用した。下記合成スキームに従い、L-セリン誘導体を出発原料として、天然型及びスレオ型スフィンゴシン誘導体(セラミドタイプ)を合成した。また、出発原料をD-セリン誘導体とすることで、同一の合成ルートにより、鏡像体を合成し、計4つのすべての立体異性体を合成に成功した。得られたサンプルについて、本VCD法が適用可能かどうか検討した。また、アルキル基の長さについても合成化学的に検討を実施した。



3) 天然有機化合物などの生理活性物質への

適用

比較的容易に入手可能な生理活性物質として、GABA 受容体ブロッカーの植物由来のピクトキシニン 10、抗狭心症作用を有する医薬品ジルチアゼム 11、抗生物質ペニシリン G (12)、天然フラボノイドのタキシフォリン誘導體 13 などをはじめとした複雑な化合物系に本 VCD 法が適用可能であることを実証した。本法が実際の複雑な天然物などの構造決定に有用であることを示せた。



4) 鎖状化合物としてグリセロ脂質への適用
グリセロ脂質は、生体中にあまねく存在し、グリセリンに脂肪酸がエステル結合した脂質である。二つのカルボニル基を有することにより、不斉炭素が生じるが、本立体化学の決定は、一般に非常に困難であり、我々の開発した手法の適法を試みた。グリセロ脂質は、古細菌では sn-1 型、真正細菌や真核生物では、sn-3 型のみであると考えられていたが、最近になって哺乳類にも sn-1 型のグリセロ脂質が存在することが判明しており、グリセロ脂質における立体配置と生命進化の関係を解明する新たな解析法の開発が望まれていた。

グリセロ脂質の持つ 2 つのカルボニル基に注目し、立体既知のジオールから数工程を経て十数種類のグリセロ脂質の合成を実施した。合成化合物の VCD を測定し、グリセロ脂質と VCD スペクトルの形状における関係を調査した結果、本 VCD 励起子法がグリセロリン脂質についても、適用可能であることを示すことに成功した。

5) 高分子化合物への適用

高分子化合物として、ポリ乳酸に着目した。ポリ乳酸は生分解性のプラスチックとして、実用化が進んでいる高分子エステルである。固体状では、その構造がらせん構造であることが知られているが、溶液中での構造解析情報はいまだ報告されていない。そこで、VCD を用いることによりポリ乳酸、ポリ乳酸-アミロース複合体、オリゴ乳酸の詳細な構造解析を実施した。市販ポリ乳酸を入手すると共に、単量体、二量体、三量体、四量体、合成を行い、VCD を測定した結果、明確な分裂型シグナルを観測することに成功した。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 13 件)

Khandelwal, P., Singh, P., Taniguchi, T., Monde, K., Johmoto, K., Uekusa, H., Masubuti, H., Fujimoto, Y., Revision of the relative and absolute

stereochemistry of 3-hydroxydehydroiso- α -lapachone and its derivatives., *Phytochemistry Lett.*, 査読有, 10, 2014, 224-229

DOI:10.1016/j.phyrol.2014.10.004

Salayová, A., Kudličková Z., Baláž M., Budovská M., Pilátová M., Mojžiš J., Monde, K., Petrovaj J., Gondová T., Stereoselective synthesis of

1-methoxyspiroindoline phytoalexins and their amino analogues, *Tetrahedron Asymmetry*, 査読有 25, 2014, 1221-1233

DOI:10.1016/j.tetasy.2014.07.006

Hongen, T., Taniguchi, T., Nomura, S., Kadokawa, J., Monde, K., In Depth Study on Solution-State Structure of Poly(lactic acid) by Vibrational Circular Dichroism, *Macromolecules*, 査読有, 47, 2014, 5313-5319

DOI:10.1021/ma501020s

Shibuta, T., Sato, S., Shibuya, M., Kanoh, N., Taniguchi, T., Monde, K., Iwabuchi, Y., Enantioselective intramolecular aza-spiroannulation onto benzofurans using chiral rhodium catalysis, *Heterocycles*, 査読有, 89, 2014, 631-639

DOI:10.1002/CHIN.201432120

Komori K., Taniguchi, T., Mizutani S., Monde, K., Kuramochi K., Tsubaki K.i, Short Synthesis of Berkeleyamide D and Determination of the Absolute Configuration by the Vibrational Circular Dichroism Exciton Chirality Method, *Org. Lett.*, 査読有, 16, 2014, 1386-1389

DOI:10.1021/o1500148g

Asai, T., Yamamoto T., Shirata N., Taniguchi, T., Monde, K., Fujii I., Gomi

K., Oshima Y., Structurally diverse chaetophenol productions induced by chemically mediated epigenetic manipulation of fungal gene expression, *Org. Lett.*, 査読有, 15, 2013, 3346-3349
DOI: 10.1021/o1401741z

Asai T., Taniguchi T., Yamamoto T., Monde K., Oshima Y., Structures of Spiroinducumides A and B, Unprecedented Carbon Skeletal Spirolactones, and Determination of the Absolute Configuration by Vibrational Circular Dichroism Exciton Approach, *Org. Lett.*, 査読有, 15, 2013, 4320-4323

DOI:10.1021/o1401386w

Asai, T., Yamamoto T., Shirata N., Taniguchi T., Monde K., Fujii I., Gomi K., Oshima Y., Structurally diverse chaetophenol productions induced by chemically mediated epigenetic manipulation of fungal gene expression, *Org. Lett.*, 査読有, 15, 2013, 3346-3349

DOI:10.1021/o1401386w

Asai T., Otsuki S., Taniguchi T., Monde K., Yamashita K., Sakurai H., Ozeki T., Oshima Y., Structures and absolute configurations of short-branched fatty acid dimers from an endophytic fungus of *Aloe arborescens*, *Tetrahedron Lett.*, 査読有, 54, 2013, 3402-3405

DOI:10.1016/j.tetlet.2013.04.063

Shibata T., Miyoshi M., Uchiyama T., Endo K., Miura N., Monde K., Enantioselective synthesis of tripodal cyclophanes and pyridinophanes by intramolecular [2+2+2] cycloaddition, *Tetrahedron*, 査読有, 68, 2012, 2679-2686

DOI: 10.1016/j.tet.2012.01.046

Asai T., Luo D., Obara Y., Taniguchi T., Monde K., Yamashita K., Oshima Y., Dihydrobenzofurans as cannabinoid receptor ligands from *Cordyceps annullata*, an entomopathogenic fungus cultivated in the presence of an HDAC inhibitor, *Tetrahedron Lett.*, 査読有, 53, 2012m 2239-2243

DOI: 10.1016/j.tetlet.2012.02.088

Taniguchi T., Monde K., The Exciton Chirality Method in Vibrational Circular Dichroism, *J. Am. Chem. Soc.*, 査読有, 134, 2012, 134

DOI: 10.1021/ja3001584

門出 健次, 赤外円二色性スペクトル法における新展開, *高分子*, 査読有, 60, 2012, 779-780

[学会発表] (計 13 件)

門出健次, 溶液中におけるポリ乳酸らせん構造の VCD 解析, Symposium on Molecular Chirality 2014. 2014 年 6 月 6 日, 仙台国際センター(宮城県 仙台市)

Monde K., Helical Nature of Polyester Studied by VCD, CHIRALITY 2014 (26th International Symposium on Chiral Discrimination, ISCD-26), 27-30 July 2014, InterContinental Hotel, Prague (Czech Republic)

Monde K., Vibrational CD spectroscopy as a powerful tool for chiral analysis of flavor compounds, 248th ACS National Meeting & Exposition, Importance of Chirality to Flavor Compounds, August 10-14, 2014, San Francisco (USA)

Monde, K., Analysis and Applications of Chiral Biomolecules by Vibrational Circular Dichroism, CRC International Symposium. September 30, 2014, 北海道大学 (北海道 札幌市)

Monde K., Chiral Analysis of

Biologically Important Molecules by VCD with and without DFT Theoretical Calculations, 4th International Conference on Vibrational Optical Activity (VOA-4), 26-29 Oct 2014, Hebei University, Baoding, Hebei Province (China)

Monde, K., Solution-State Helical Structural Study of Poly-L-Lactic Acid by VCD, Molecular Chirality Asia, Oct. 30-31, 2014, Peking University, Beijing, (China)

Monde K., Development of a efficient methodology for the rapid isolation of bioactive sphingoid bases toward chemical library, Asian Chemical Biology Initiative . November 22-25, 2014 , Hangzhou Shujiang Hotel, Hangzhou (China)

Monde K., Chirality in Chemical Biology Utilizing Vibrational Circular Dichroism, Asian Chemical Biology Initiative (ACBI) 2014 Manila Meeting, Jan. 25, 2014, Manila (Philippines)

Monde K., VCD Exciton Chirality Method for Stereochemical Analysis, Nakanishi 88th Birthday Symposium, May 18, 2013, Columbia University, New York (USA)

Taniguchi, T., Manai D., Hongen T., Monde K., International Conference on Chiroptical Spectroscopy, June 9, 2013, Student Life Center, Vanderbilt University, Nashville (USA)

門出 健次, 赤外円二色性スペクトルによるキラル解析の新展開, 第4回キラルサイエンス&テクノロジーシンポジウム, 2013年3月1日, 早稲田大学(東京都新宿区)

門出 健次, 赤外円二色性スペクトルに

よるフッ素系キラル化合物の迅速立体構造解析, フルオラス科学研究会第5回シンポジウム, 2012年11月29日, 戦災復興記念館(宮城県 仙台市)

門出 健次, 赤外円二色性スペクトルによる立体化学解析の新展開, 文部科学省戦略研究基盤形成事業「有機合成と天然物化学の手法による医薬品素材の開発」第9回研究発表会, 2012年12月22日, 徳島文理大学(徳島県 徳島市)

[図書] (計 1 件)

門出健次他、化学同人 CSJカレントビュー第13号「キラル化学 その起源から最新のキラル材料研究まで」、2013、6-205

[産業財産権]

取得状況(計 1 件)

名称: 糖スフィンゴシン及びスフィンゴ塩基の製造方法
発明者: 門出健次、五十嵐靖之、今村正純、ボメゴウダ シッタバサーブ ゴウダ
権利者: 同上
種類: 特許
番号: 特許公開 2014-215478
出願年月日: 2014/10/22
国内外の別: 国内

[その他]

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

門出 健次 (MONDE, Kenji)

北海道大学・先端生命科学研究院・教授

研究者番号: 40210207

(2) 研究分担者

谷口 透 (TANIGUCHI, Tohru)

北海道大学・先端生命科学研究院・助教

研究者番号: 00587123

村井 勇太 (MURAI, Yuta)

北海道大学・先端生命科学研究院・助教

研究者番号: 20707038