

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 15 日現在

機関番号：11101

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2015

課題番号：26660093

研究課題名(和文)天然有機化合物の構造解析をサポートする実践的な計算化学利用法

研究課題名(英文) Investigation of practical calculation protocols in the reproduction of spectra of natural products.

研究代表者

橋本 勝 (Hashimoto, Masaru)

弘前大学・農学生命科学部・教授

研究者番号：40212138

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,700,000円

研究成果の概要(和文)：天然有機化合物の構造決定において、スペクトル解析は極めて重要である。多くの場合、シグナルの帰属では経験に基づく帰納的判断がなされてきた。従って特異な構造の場合、データベースの信頼性が低下する。一方、近年のコンピュータの発達によって理論に基づくスペクトル予想が可能になってきた。しかし、天然物に応用された例は多くなく、一般化させるには不十分である。そこで、NMR化学シフトおよび電子円二色性スペクトルに標的を絞り、必要な計算手法、基底関数、構造最適化アルゴリズムなどの条件の選択、最適な配座解析法の組み合わせ、精密計算が対象としうる化学構造などのscope and limitationを行う。

研究成果の概要(英文)：Spectral analyses are indispensable in structural determination of natural products. Usually those have required empirical databases. Thus, the reliability decreases in the cases of determinations of structurally unique natural products. On the other hand, remarkable progress of computer technologies enabled us to perform the spectral reproduction based on the non-empirical manner. But this methodology is now insufficient in natural product chemistry due to only a few examples existing. Thus the present study performs the scope and limitation of spectral calculations by investigating the suitable combinations of method of calculations, basis sets, and optimization algorithm.

研究分野：天然物化学

キーワード：天然物構造決定 スペクトル解析 分子起動計算予測

1. 研究開始当初の背景

天然有機化合物の構造決定において、スペクトル解析は極めて重要である。多くの場合、シグナルの帰属では経験に基づく帰納的判断がなされてきた。したがって特異な構造の場合、データベースの信頼性は著しく低下、即ち構造の信頼性が低下する。一方カーブラスらがノーベル賞を受賞するなど、量子計算に基づく分子モデリングの実力は世界に評価された。またハードウェアの発達により多くの計算が身近になったが、再現性、煩雑さ、計算コストに関する情報が少なく、天然物研究者がベンチトップで利用するほどには普及していない。本研究では、量子化学に基づくスペクトル計算を、天然物化学者の視点でデータを集積し、計算経験の少なさを補完して利用できるプロトコルの開発を目指す。

2. 研究の目的

前述したように、近年のコンピュータ技術の発達によって量子化学に基づくスペクトル予想が可能になってきた。しかし、その適用範囲は未知で、広く普及させるには一般的なスキームの確立が不可欠である。本研究課題では、NMR 化学シフトおよび電子円二色性スペクトルに標的を絞り、量子化学的計算による予想に必要な計算手法、基底関数、構造最適化アルゴリズムなどの条件の選択、最適な配座解析法の組み合わせ、精密計算が対象としうる化学構造などの scope and limitation を行い、*in silico* スペクトル予想を天然物化学に普及させる基礎プロトコルを作成する。

3. 研究の方法

本研究では、多様な構造を有する天然物の理論的 NMR および電子円二色性スペクトル計算方法を確立させるため、配座の少ない多環テルペン、配座がスペクトルに与える影響が大きい大環状天然物、配座数が膨大な直鎖構造を有する天然物などを例として用い、計算手法・計算コスト・実測値との相関について検討する。特にスペクトル計算では、利用度の高い B3LYP/6-31G*法、EDF2/6/31G*法の違い、さらに高レベルな基底関数を用いた場合の精度向上と計算コストとの関係を整理する。分子サイズに伴い計算所要時間が指数的に増大するため、分子サイズも検討項とする。

また、重要な安定配座を残しつつ、スペクトルに影響しない高エネルギー配座を効果的に削除する方法論はほとんど確立されていないことから、配座解析法との連携にも留意して検討する。

4. 研究成果

研究の過程で、NMR 化学シフトは立体配座に極めて敏感であることが判明した。配座探索では時には数十万を超える初期配座を評価する必要があり計算速度で有利な分子力学法を使用する機会が多い。しかし、力場法では官能基を多数有する分子の再現性は低く、また歪んだ分子を想定しておらず、安定配座の探索に漏れが発生することが判明した。精査した結果、STO3G など低コストな分子起動計算を用いた配座探索を行うことにより、実用的な計算時間で実行できることが判明した。また、化学シフト計算において、実測値と計算値のずれを構造式上にマッピングすることにより、計算結果の評価が確実になることが判明した。本手法により新たに単離した epoxyrouddoenone, epoxyrousoedione の構造決定に応用、円二色性スペクトル計算も用い、絶対配置を含めて確定することができた。これら化合物は分市内に水素原子を持たないため、通常の NMR スペクトル解析による構造決定は困難であった。円二色性スペクトル計算では BhandHLYP/TZVP や CAM-B3LYP/TZVP 法などが有効であることを明らかにした。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 12 件)

- Ito, A.; Kumagai, I.; Maruyama, M.; Maeda, H.; Tonouchi, A.; Nehira, T.; Kimura, K.; Hashimoto, M., Homopetasinic acid isolated from *Diaporthe* sp. strain 1308-05, *Tetrahedron Letters* **2016**, 57, 1117-1119.
- Honmura, Y.; Uesugi, S.; Maeda, H.; Tanaka, K.; Nehira, T.; Kimura, K.; Okazaki, M.; Hashimoto, M., Isolation, absolute structures, and biological properties of cyclohelminthols I-IV from *Helminthosporium velutinum* yone96, *Tetrahedron* **2016**, 72, 1400-1405.
- Arayama, M.; Uesugi, S.; Tanaka, K.; Maeda, H.; Nehira, T.; Kimura, K.; Hashimoto, M., Homojesterones: vinylogous analogues of jesterone from *Helminthosporium velutinum* TS28, *Tetrahedron* **2016**, 72, 1031-1035.
- 橋本勝, リンゴ果実上におけるマイコパラサイト現象の分子機構, *有機合成化学協会誌* **2015**, 73, 230-240.
- Ito, A.; Maeda, H.; Tonouchi, A.; Hashimoto, M., Relative and absolute structure of phomolide C, *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **2015**, 79, 1067-1069.
- Honmura, Y.; Takekawa, H.; Tanaka, K.; Maeda, H.; Nehira, T.; Hehre, W.; Hashimoto, M., Computation-Assisted Structural

- Elucidation of Epoxyrousoeone and Epoxyrousoedione Isolated from *Rousoella japonensis* KT1651, *J. Nat. Prod.* **2015**, *78*, 1505–1510.
7. Fujii, M.; Chiba, H.; Tamayama, N.; Kanamaru, S.; Hashimoto, M., Isotopic Differentiation Protocol, a Selective Extraction of C- and N-Terminal Ions in ESI-MS/MS De Novo Peptide Sequencing, *Nat. Prod. Chem. Res.* **2015**, *3*, 164.
 8. Arayama, M.; Nehira, T.; Maeda, H.; Tanaka, K.; Miyagawa, H.; Ueno, T.; Hosokawa, S.; Hashimoto, M., Isolation, ECD Assisted Structural Analyses, Biosynthetic Discussions, and Biological activities of epi-Cochlioquinones D and its Derivatives, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 4788-4794.
 9. Arayama, M.; Maeda, H.; Tanaka, K.; Takada, N.; Nehira, T.; Hashimoto, M., Achaetolide-II isolated from *Helminthosporium velutinum* TS28, *Tetrahedron* **2015**, *71*, 7900-7910.
 10. Tayone, W. C.; Tayone, J. C.; Hashimoto, M., Isolation and structure elucidation of potential anti-dengue metabolites from tawa-tawa (*Euphorbia hirta* Linn.), *Walailak Journal of Science and Technology (WJST)* **2014**, *11*, 825-832.
 11. Hirose, A.; Maeda, H.; Tonouchi, A.; Nehira, T.; Hashimoto, M., Neomacrophorin I, II, and III, novel drimenyl cyclohexanes with hydroxylated butanoates from *Trichoderma* sp. 1212-03, *Tetrahedron* **2014**, *70*, 1458-1463.
 12. Hirose, A.; Kudo, S.; Murakami, T.; Tanaka, K.; Harada, Y.; Hashimoto, M., Lambertellin system, the mechanism for fungal replacement of *Monilinia fructigena* with *Lambertella corni-maritima* without competitive inhibition on agar media, *Bioorg. Med. Chem.* **2014**, *22*, 2489-2495.
- [学会発表](計 19 件)
1. 高橋萌子, 橋本勝, Spiroleptosphol の全合成研究, 日本農芸化学会 2015 年度大会 (2015.03.28, 岡山)
 2. 伊藤厚・殿内暁夫・橋本勝, Phomolide C の相対及び絶対配置の決定, 日本農芸化学会 2015 年度大会 (2015.03.29, 岡山)
 3. 荒山美紀, 田中和明, 前多隼人, 根平達夫, 橋本勝, 新規 epi-cochlioquinone 誘導体とその合成前駆体の単離と構造, 日本農芸化学会 2015 年度大会 (2015.03.29, 岡山)
 4. 伊藤厚, 殿内暁夫, 橋本勝, Phomolide C の相対及び絶対配置の決定, 第 10 回化学生態学研究会 (20150613.函館)
 5. 橋本勝, 本村優奈, 根平達夫, 分子軌道計算支援による新規マクロフォリンの構造決定, 第 10 回化学生態学研究会 (20150613.函館)
 6. Miki Arayama, Tatsuo Nehira, Hayato Maeda, Kazuaki Tanaka, Hisashi Miyagawa, Tamio Ueno, Seiji Hosokawa, Masaru Hashimoto, “Isolation, ECD Assisted Structural Analyses, Biosynthetic Discussions, and Biological activities of epi-Cochlioquinones D and its Derivatives”, 15th International Conference on Chiral Spectroscopy (2015.08.31 札幌)
 7. Masaru Hashimoto, "Bioorganic Studies on Mycoparasitism on Apple Fruit", University of Saskatchewan Special Seminar (2015.08.19, サスカチュワン)
 8. 荒山美紀, 前多隼人, 田中和明, 根平達夫, 宮川恒, 上野民夫, 細川誠二郎, 橋本勝, Cochlioquinone 化学の新展開—ECD の徹底活用と新たな生物活性考察, 第 57 回天然有機化合物討論会 (2015.09.10 横浜)
 9. 橋本勝・廣瀬あかね・殿内暁夫・根平達夫, Neomacrophorin I, II, および III の構造決定, 日本農芸化学会 2014 年度大会(2014.03.28, 神奈川)
 10. 本村優奈・狩原恭平・田中和明・前多隼人・根平達夫・ウォーレン ヒーリー, 橋本勝 Epoxourossenone 及び Epoxyroussedione の構造決定, 日本農芸化学会 2014 年度大会 (2014.03.28, 神奈川)
 11. 橋本勝, 計算機支援による天然物の構造決定, 理研シンポジウム物質構造解析 2014 : MS と NMR の基礎と実践 (2014.06.20, 招待講演)
 12. 橋本勝, 廣瀬あかね, 殿内暁夫, 前多隼人, 根平達夫, Neomacrophorin 類の構造決定, 第 9 回化学生態学研究会 (2014.06.28, 函館)
 13. 本村優奈, 狩原恭平, 田中和明, 前多隼人, 根平達夫, Warren Hehre, 橋本勝, 量子化学計算支援による Epoxyrousseone 類の構造決定, 第 9 回化学生態学研究会 (2014.06.28, 函館)
 14. 荒山美紀, 田中和明, 橋本勝, *Helminthosporium velutinum* TS28 が生産する新規 epi-cochlioquinone 誘導体, 平成 26 年度 日本農芸化学会北海道支部・東北支部 合同支部大会 (2014.09.22, 札幌)
 15. 伊藤厚, 殿内暁夫, 橋本勝, Phomolide C の相対及び絶対配置の決定, 平成 26 年度 日本農芸化学会北海道支部・東北支部 合同支部大会 (2014.09.22, 札幌)

16. 橋本勝、藤井眞、千葉洋、玉山方子, MS/MS ペプチド配列解析における簡便なイオン識別法の開発, 平成26年度 日本農芸化学会北海道支部・東北支部 合同支部大会 (2014.09.22, 札幌)
17. 本村優奈、狩原恭平、田中和明、前多隼人、根平達夫、Warren J. Hehre、橋本勝, 量子化学計算支援による Epoxyrussone 類の構造決定, 第56回天然有機化合物討論会 (2014.10.15)
18. 橋本勝, リンゴ果実におけるマイコパラサイト現象の生物有機化学的研究, 北海道大学理学部化学科講演会 (2014.09.12, 札幌)
橋本勝, リンゴ果実におけるマイコパラサイト現象の生物有機化学研究, 日本化学会東北支部, 青森地区講演会 (2014.10.03)
19. Masaru Hashimoto, Bioorganic Studies on Mycoparasitism on Apple Fruits, Michigan State University Department of Chemistry Seminar (2014.12.05)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 1 件)

1. 名称:ペプチドのアミノ酸配列の決定法発明者:橋本勝、千葉洋、玉山方子
権利者:弘前大学、東北化学薬品株式会社
種類:審査未請求
番号:特開 2016-4032
出願年月日:2014/06/19
国内外の別:国内

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://nature.cc.hirosaki-u.ac.jp/lab/2/biochem/yuki/>

6. 研究組織

(1)研究代表者

橋本勝 (HASHIMOTO Masaru)
弘前大学・農学生命科学部・教授
研究者番号:40212138

(2)研究分担者

根平達夫 (NEHIRA Tatsuo)
広島大学・大学院総合科学研究科・准教授
研究者番号:60321692