

論文の内容の要旨

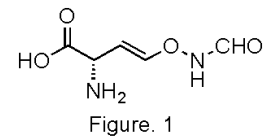
応用生命化学 専攻
平成23年度博士課程 入学
氏名 堀之内 妙子
指導教員名 渡邊 秀典

論文題目

発芽停止活性を有する新奇アミノ酸の全合成研究

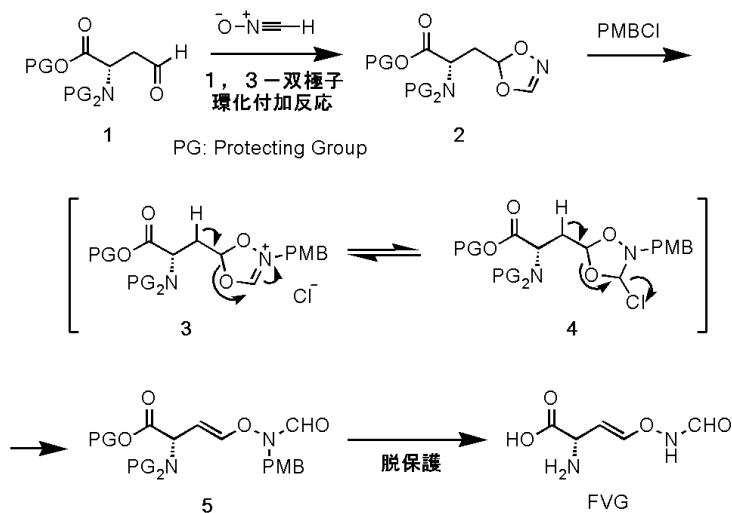
除草剤は多くの場所で用いられている。現在広く用いられている除草剤は、作物と雑草間の選択性が低く、除草剤耐性を有する遺伝子組み換え作物を開発することでその欠点を補っている。また、除草剤の利用という行為自体が、耐性株の出現リスクを負うことが問題となっている。そのため現在は耐性株出現の頻度を抑えるため除草剤の多剤併用が対策として取られているが、すでに400種近い耐性株が確認されており、今後は既存の除草剤のみの利用ではなく、新たなメカニズムによる、優れた選択性を有する除草剤の開発が望まれる。そのような新規除草剤候補物質の探索場所として、有害バクテリアが注目され始めている。根圏に生息する病害バクテリアが産生する二次代謝産物は植物の生長に悪影響を及ぼすが、これを雑草に対してうまく利用すれば新たなタイプの除草剤として利用が可能となる。

今回筆者が研究対象としたアミノ酸化合物、4-Formylaminoxyvinylglycine (以下 FVG, Figure. 1) は、根圏バクテリアの一種 *Pseudomonas fluorescence* WH6 から単離された二次代謝産物である。FVG は、雑草として広く知られるスズメノカタビラなどの単子葉類の種子の発芽を停止する一方で、ニンジンやタバコなど双子葉類の生長にはほとんど影響を与えない。そのため選択的除草剤としての可能性を有している。



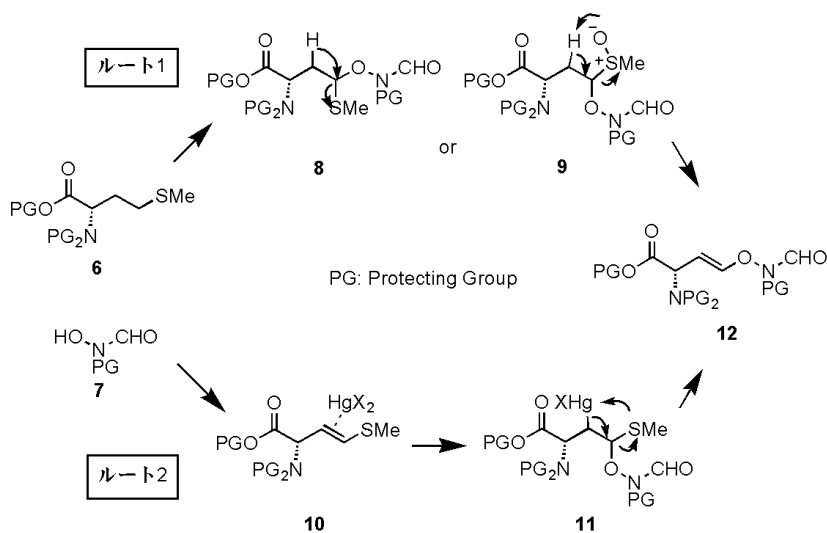
FVG を除草剤として利用しようとする、FVG を産生するバクテリアそのものの利用も考えられるが、この方法は、温度や湿度などバクテリアに影響を与える外的要因の影響を受けやすく、除草剤の効果が安定して得られるものではない。また FVG は熱に弱く高極性であり、バクテリアからの単離も効率的ではない。有機合成により FVG を合成する手法は、環境の影響を受けずに恒常的に除草剤を供給することを可能とする。FVG が有するホルムアミドオキシビニル構造はこれまでに天然でも合成品でも報告例はなく、この骨格構築法には化学的な興味も持たれる。また、有機合成により FVG を基本骨格とした類縁体合成を行うことで、残留性と安定性のバランスや活性の種間での選択性などの除草剤としての性能がより優れた化合物を創

造することが可能である。さらに、現段階で FVG の発芽停止活性のメカニズムは推測の段階でしかなく、FVG の標的タンパクを同定することは、生物学的に重要なことである。合成した FVG やその類縁体を生物実験に用いることで、標的タンパクの同定に貢献できる可能性もある。以上のように、除草剤としての可能性を有する天然物 FVG を有機合成することが、特異な構造の構築法の開発、環境に依存しない恒常的な試料供給、作用メカニズムの解明、優れた除草剤候補化合物の創製につながると考え、本研究に着手することとした。



Scheme. 1

スキームはホルムアミドオキシビニル構造が短工程で構築できるため効率的であり、かつユニークである。しかしながら、第一段階のアルデヒドとニトリルオキシドの1,3-双極子環化付加反応の前例はなく、検討の結果望みの環化付加反応は進行せず、本反応を用いる FVG の合成戦略は断念した。



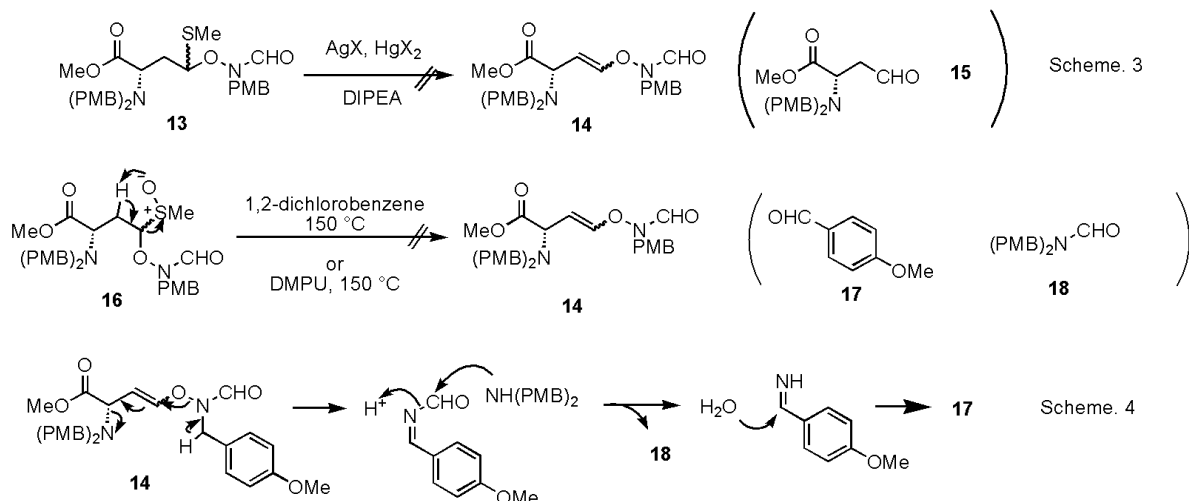
Scheme. 2

ものである。メチオニン保護体 6 から調製したデヒドロ体 10 のビニルスルフィド部位に対して、ヒドロキサム酸 7 を用いてオキシマーキュレーションを行うことで 11 を生成し、更に逆チオマーキュレーションを起こし SMe 基を脱離させることで、一気に FVG の骨格を構築しようというものである。このような反応はこれまでに例がなく、ルート 2 による合成は有機合成化学的に価値が高い。また本ルートを用いて FVG を基本骨格とした各種類縁体の合成も可能となるはずである。

先にも述べたように FVG が有するホルムアミドオキシビニル構造を含む化合物はこれまでに報告例がなく、この骨格をいかに効率的に構築するかが鍵である。そのような FVG の合成戦略として、筆者は1,3-双極子環化付加反応を利用することを考案した (Scheme. 1)。すなわち、アルデヒド体 1 をニトリルオキシドとの1,3-双極子環化反応に付すことで、5員環化合物 2 を得、2 に PMBCl を作用させることで、中間体 3 や 4 を経由して、五員環を開環させ、一気に FVG の保護体 5 を得ようというものである。本ス

次に筆者はL-メチオニンを出発物質とする FVG の2つの効率的な合成戦略を考案した (Scheme. 2)。ルート 1 は、L-メチオニン保護体 6 にヒドロキサム酸 7 を酸化的に付加させ、チオアセタール体 8 を合成し、続いて SMe 基の脱離によりエノール部位を構築するか、8 を酸化してスルホキシド 9 とし、スルホキシドの脱離によりエノール部位を構築しようというものである。一方、ルート 2 は硫黄と水銀の親和性を利用する

まずルート 1 による合成を試みることにした。チオアセタール **13** に対し、塩基存在下で銀塩や水銀塩を作用させ、SMe 基の脱離を試みたが、**14** は得られず、アルデヒド **15** が少量得られるのみであった (Scheme. 3)。そこでスルホキンド **16** の熱分解を試みたが **14** は得られず、今度はアルデヒド **17** とホルムアミド **18** が生じる結果となった (Scheme. 4)。この 2 つの生成物が生じたメカニズムとして、系中で生じた **14** が N-O 結合の開裂を伴い分解したのではと考えている。



このように、ルート 1 においては硫黄の脱離にある程度の強い条件が必要であり、特にスルホキンドの脱離においては望む **14** が生成しても、すぐに N-O 結合が開裂して生成物が分解してしまうということがわかった。

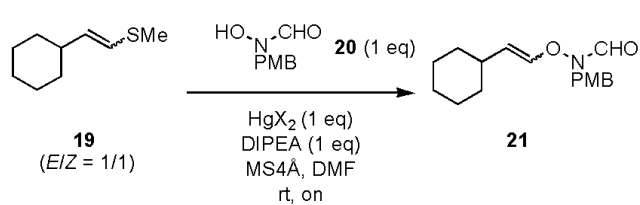


Table. 1

entry	HgX ₂	yield of 21	E/Z
1	Hg(OTf) ₂	16%	3.5 / 1
2	Hg(BF ₄) ₂	12%	22 / 1

そこでルート 2 を試すことにした。まずはより簡単なモデル化合物 **19** を用いて鍵反応の検討を行った (Table. 1)。その結果、水銀塩として水銀トリフラートや水銀テトラフルオロボレートを用いると 1 割程度の収率ではあるが、FVG と同様のホルムアミドオキシビニル部位を有する **21** が得られた。また、水銀テトラフルオロボレートを用いた場合には、FVG と同じ E 体の生成比がより大きくなることがわかった。

モデル実験の結果をもとに、デヒドロメチオニン **22** を用い検討を行った (Table. 2)。水銀トリフラートでは **23** が E/Z = 4 : 1 で、また水銀テトラフルオロボレートでは **23** が E 体選択的に得られた。E 体のみを選択的に与える水銀テトラフルオロボレートに固定し溶媒の検討を行った結果、アセトニトリルやニトロメタンを溶媒として用いる条件がよい結果を与えた。このようにして、本反応の収率は中程度であるものの、L-メチオニンから 3 工程で FVG の PMB 保護体 **23** を得ることができた。

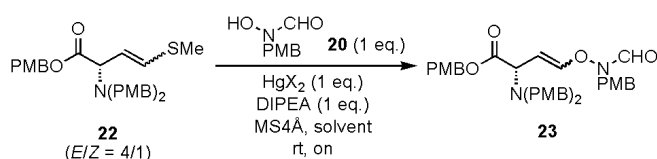
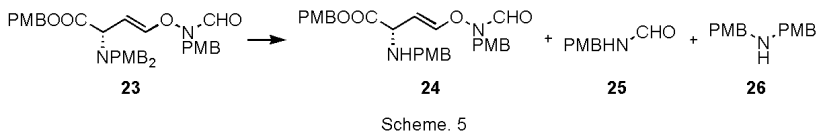


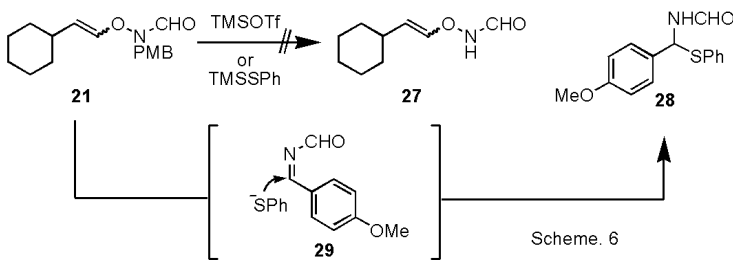
Table. 2

entry	HgX ₂	solv.	E/Z	23
1	Hg(OTf) ₂	DMF	4/1	23%
2	Hg(BF ₄) ₂	DMF	E only	9%
3	Hg(BF ₄) ₂	CH ₃ CN	E only	33%
4	Hg(BF ₄) ₂	CH ₃ NO ₂	E only	33%
5	Hg(BF ₄) ₂	DCM	E only	25%
6	Hg(BF ₄) ₂	toluene	-	trace

次に **23** の脱保護の検討を行った。DDQ および CAN を用いた結果、アミノ基の PMB が一つ外れた **24** は



低収率ながら得られるものの、温度を上げたり酸化剤の当量を増やしたりすると、N-O結合が開裂して生じる **25** やアミノ基が脱離した **26** が生成することが分かった。そこで、水素雰囲気下還元的条件による脱保護の検討を試みたが、パラジウム炭素を用いた際反応は進行せず原料を回収するのみとなった。そこで、還元反応を加速させるべく **23** に対して 1 当量のプロトン酸を加える同様の条件に付すと、アミノ基の脱離が認められ **26** が得られた。またより高活性なパラジウム触媒としてパールマン触媒を用いると、NO 結合の開裂が認められ **25** が得られた。



そこでモデル化合物 **21** を用いてヒドロキサム酸部位の脱保護の検討を行った (Scheme. 6)。ルイス酸として TMSCl を用いた際には反応は進行しなかった。更にルイス酸性の強い TMSOTf や TMSPh を用いた際には、副生成物 **28** のみを得られた。**28** は、ベンジル位の脱プロトン化と NO 結合の開裂により生じた **29** に対してチオフェノキシドアニオンが求核付加したことで生じると考えられた。

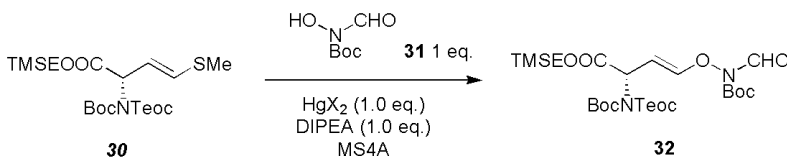
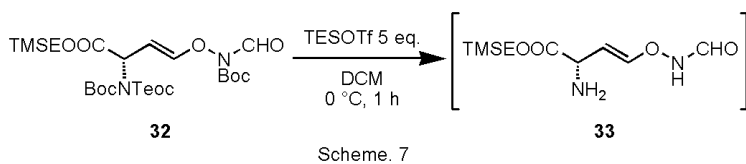


Table. 3

entry	HgX ₂	solv.	temp.	time	yield of 32	<i>E/Z</i>
1	Hg(BF ₄) ₂	CH ₃ CN	rt	0.5h	trace	-
2	Hg(BF ₄) ₂	DCM	rt	0.5 h	trace	-
3	Hg(BF ₄) ₂	CH ₃ CN	0 °C	1 h	10%	1:1
4	Hg(OTf) ₂	CH ₃ CN	0 °C	1 h	50% (65% brsm)	<i>E</i> only
5	Hg(OTf) ₂	CH ₃ CN	0 °C	1 h	50%	<i>E</i> only

(entry 5: **30** に対して **31** 2 eq., Hg(OTf)₂ 2 eq., DIPEA 2 eq. 用いた)

そのため保護基を変更し、Boc 保護のついたヒドロキサム酸 **31** を用いることとした (Table. 3)。 **30** を、これまでに最も良い結果を与えた条件に付したところ (entry. 1)、反応の進行は遅く、また系中で **32** の分解が観測され、ほとんど **32** を得ることは出来なかった。そこで反応温度を 0 °C まで下げると、ある程度分解が抑えられ、 **32** を 10% 程度得ることが出来た (entry. 3)。しかし得られた **32** の *E/Z* 比は 1 : 1 であり、 **20** や **22** を用いた際とは異なり、 *E* 選択性は見られなかった。そこで、同じ 0 °C 下で水銀トリフラートを用いると、今度は反応が速やかにかつ *E* 体選択的に進行し、 **32** を中程度の収率で得ることが出来た (entry. 4)。この際 **30** が 2 割程度回収されたために、ヒドロキサム酸 **31**、水銀塩、塩基の当量を 2 倍に増やしたが収率の改善は見られなかった (entry. 5)。



次に **32** の脱保護を検討した。ルイス酸として TESOTf を作用させると、カルバメート系の保護基が外れた **33** を水溶液として得ることが出来た (Scheme. 7)。

本研究では、ビニルスルフィドに対するオキシマーキュレーションと続く逆チオマーキュレーションを鍵反応として、L-メチオニンを出発物質として短工程で FVG の保護体を合成した。本反応は新規性を有し、ビニルグリシン類縁体など他の天然物を始めとする生理活性有機化合物の合成研究に応用可能であると考えられる。今後は FVG の保護体 **33** の脱保護により FVG を合成後、新規除草剤の開発を最終目的として本ルートを利用した類縁体合成や発芽停止活性評価など FVG に関する発展的な研究を行っていく予定である。