

## 論文の内容の要旨

### 論文題目 テルペン類の生合成におけるカチオンを駆動力とする環化反応の理論解析

氏名 佐藤 玄

【序 論】天然には多種多様な生理活性物質が存在し、その生合成機構の解明は、基礎科学としてのみならず薬学研究において極めて重要である。近年における理論と計算機の大きな進歩により、低分子のみならず複雑系高分子化合物において、高速かつ高精度での理論計算が可能となりつつある。そこで、本研究では理論計算を主軸として用いて、未解明の生合成経路のうち、酵素内部でのユニークな環化反応に着目し、機構解析を行った。

#### 1. Cyclooctatin 生合成機構の理論解析：シクロプロパン環を経由する炭素転位反応

【背景】Cyclooctatin は、

*Streptomyces melanosprofaciens* が生産する 6 個のキラル中心と 5/8/5 員環の 3 環性構造を有するジテルペン化合物である。トレーサー実験・重水素標識実験により、Cyclooctatin の骨格形成では、複数回の水素移動、8、9 位の炭素原子がその生合成過程で組み変わるユニークな炭素転位反応が起こることが示された<sup>1</sup> (図 1)。ジテルペン環化酵素は、アミノ酸側鎖が反応活性中心にほとんど関与しないとされており<sup>2</sup>、実験化学的手法だけを用いて環化メカニズムを明らかにすることは困難である。そこで、理論計算と実験化学的手法を組み合わせ、Cyclooctatin 環化反応機構の解明を目指した。

【結果・考察】DFT 計算により図 2 に示す反応経路が得られた。活性化エネルギーは全て 20 kcal/mol 以下であり、室温下で十分に反応が進行する。また、反応の前後で約 40 kcal/mol の大きな安定化が生じることも明らかとなった。すなわち、Cyclooctatin の骨格形成反応の全体像は、以下に示す (A) 5/8/5 員環形成、(B) 複数の水素移動を駆動力とするカチオンの移動、(C) 3 員環形成を伴う炭素転位反応の 3 つのパートに分けられることが判明した (図 2)。(A) : GGDP (SM) から二リン酸が脱離した後に C1 位に生じるカチオンは、C10 位の  $\pi$  電子により安定化され、閉環前駆体を生じる (IM1)。その後、14 位  $\pi$  電子からの攻撃により、5-11 員環を形成する (IM2)。その後、11 位の Me 基、14 位の <sup>t</sup>Pr 基の立体反発の解消と 11 員環の配座安定化を駆動力とし、IM3 へとコンフォメーション変化が起こる。その後、8 位の  $\alpha$  位の水素が [1,5]-shift する。 $\beta$  位の水素の [1,5]-shift は  $\alpha$  位に比べ立体的に不利であり、活性化エネルギーは 40 kcal/mol 以上高い。アリルカチオン (IM4) を経由し、B/C 環が *cis* 縮環する。縮環の立体化学は、IM1 の酵素内でのコンフォメーション、具体的には GGDP (SM)

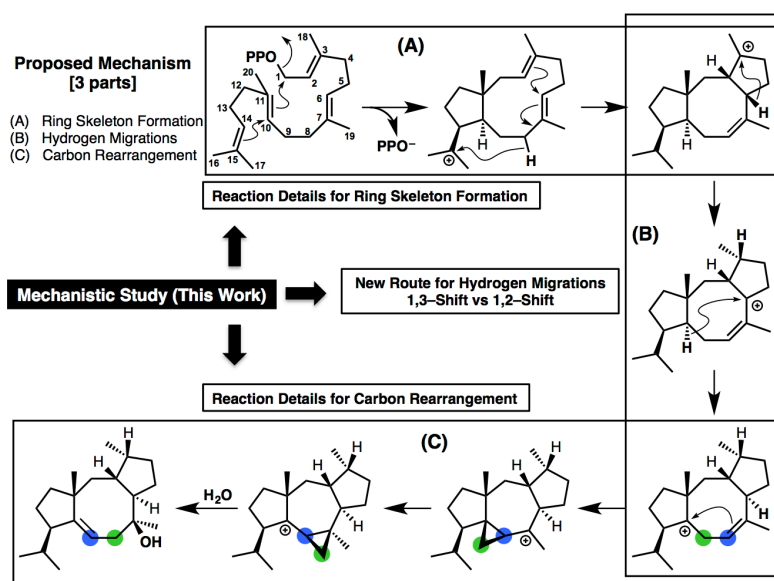
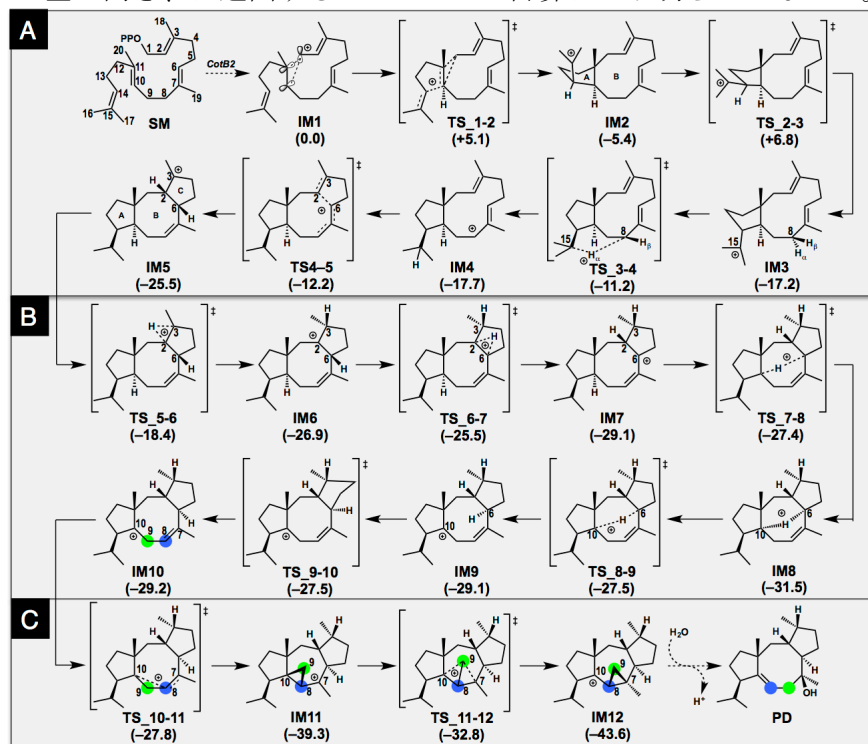


Figure 1. Cyclooctatin 推定生合成経路

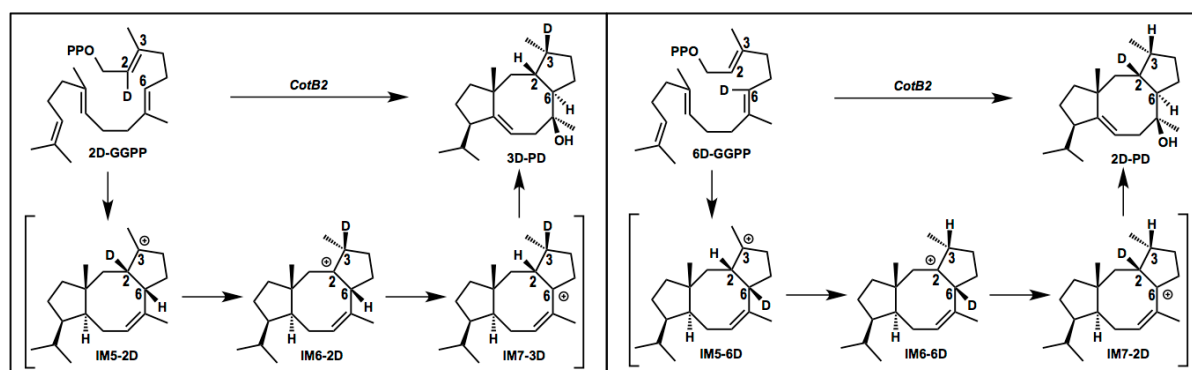
の 4 箇所の二重結合の Me 基の向き、に起因することが DFT 計算により明らかとなった。

**(B)** : 実験化学的研究では、C3 位から C6 位へとカチオンが移動する過程は [1,3]-H shift が考えられてきた。しかしながら、DFT 計算の結果 [1,2]-H shift を 2 回繰り返す経路の方が、約 13 kcal/mol も有利であることが判明した。[1,2]-H shift では、移動する水素はカチオン性を帯びており、ヒドリドではなくプロトンシフトである。そのため **TS5-6** や **TS6-7** では、反応点の C-C 結合は二重結合性を帯び、三中心二電子結合の構造を取ることにより遷移状態が安定化されるため、大幅に活性化エネルギーが下がったものと考えられる。また、共同研究による重水素標識した基質を用いた酵素実験により、この計算結果が正しいことが支持された (図 3)。その後、8 員環背部で [1,5]-H shift が起こり、ホモアリルカチオンが形成される (**IM7** → **IM9**)。



**Figure 2.** Cyclooctatin 合成機構の理論解析 (M06-2X/6-31G\*\*): カッコ内の数字は、**IM1** を基準とした  $\Delta G$  (kcal/mol) を表す

ることにより遷移状態が安定化されるため、大幅に活性化エネルギーが下がったものと考えられる。また、共同研究による重水素標識した基質を用いた酵素実験により、この計算結果が正しいことが支持された (図 3)。その後、8 員環背部で [1,5]-H shift が起こり、ホモアリルカチオンが形成される (**IM7** → **IM9**)。



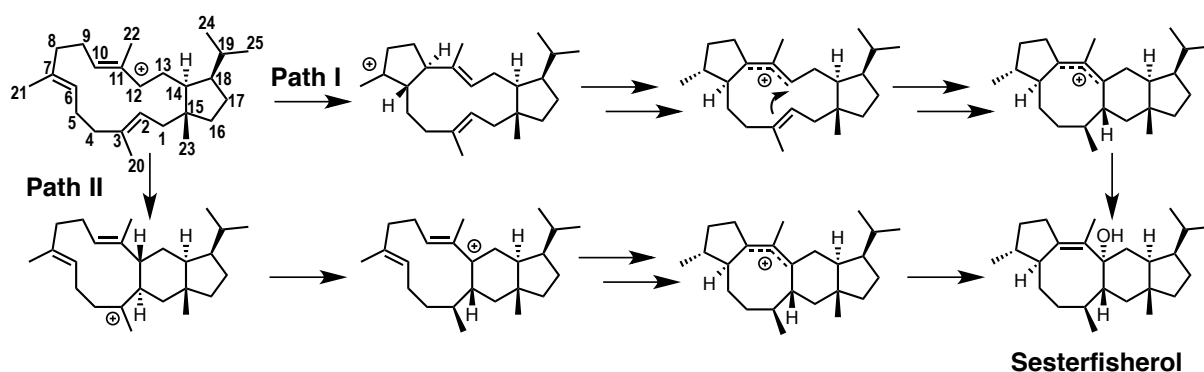
**Figure 3.** 重水素標識基質を用いた [1,2]-H shift 確認実験

**(C)** : ホモアリルカチオン (**IM9**) 形成後、カチオンの安定化のためシクロプロピルカルビニルカチオン (cyclopropyl carbinyl cation) が形成される (**IM11**)。この 3 員環は 7 員環内部にあるため、立体的制約を受けており、また 3 員環の各結合が C7 位のカチオンからの影響を非等価に受けるため、非常に歪んだ構造をしている。この歪みを駆動力として次の炭素転位反応が進行する。すなわち、炭素転位反応後の **IM12** では、**IM11** に比べ歪みが少なく、約 4.3 kcal/mol の安定化が得られた。また、その過程である **TS11-12** では、シクロプロトニ

ウムカチオン (cyclobutonium cation) 構造を持つ特異な遷移構造を有していることも明らかとなった。以上のように、DFT 計算と実験化学を組み合わせることで、Cyclooctatin の環化反応の詳細を明らかにすることができた<sup>3</sup>。

## 2. Sesterfisherol 生合成経路についての理論解析

【背景・目的】 Sesterfisherol は、*Neosartorya fischeri* により生産される 8 個のキラル中心と 5/6/8/5 員環の 4 環性構造を有するセスタテルペンである。重水素標識実験により複数回の水素移動が酵素内で進行していることが明らかとなっている<sup>4</sup>。しかしながら、生合成過程において、5 員環と 6 員環のどちらが先に環化しているかについては、実験的に証明することが困難である (図 4)。そこで、理論計算を用いて Sesterfisherol のユニークな骨格形成反応の生合成機構の解明を目指し、研究を開始した。



**Figure 4.** Sesterfisherol の推定生合成経路

【結果・考察】 DFT 計算の結果、Path I (5 員環形成が先) では、反応経路終盤においてトリキナン骨格を有する複雑な環化生成物へと反応が進行してしまうことが明らかとなった。一方、Path II (6 員環形成が先) では、室温条件下にて十分に反応が進行し、5/6/8/5 員環を有する 4 環性目的生成物を与えることが判明した。また、コンフォメーションが反応機構に与える影響についても明らかにした。

【総括】 本研究では、テルペン類の生合成経路における特異な多環骨格形成の謎に興味を持ち、Cyclooctatin と Sesterfisherol を取り上げ、理論計算を用いて詳細な機構解析を行なった。反応の初期に生じるカチオンの性質を利用した巧みな骨格形成反応について明らかにすることができた。いずれの生合成経路においても、生成物の立体化学は、基質 (反応開始時) のコンフォメーションにより決定されていることから、酵素反応中心の立体電子構造が極めて重要であることが示唆される。本研究により得られた知見および成果は、有機化学、理論化学、反応化学といった基礎学理のみならず、今後、酵素機能の改変など実験化学者との共同研究を通じて、薬学の発展に貢献できると信じている。

### 【参考文献】

1. Kuzuyama, T. *et al. Angew. Chem. Int. Ed.* **2015**, *54*, 4353–4356.
2. Christianson, D. W. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 3412–3442.
3. Sato, H.; Kuzuyama, T.; Uchiyama, M. *et al. Sci. Rep.* **2015**, *5*, 18471–18476.
4. Oikawa, H. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2015**, *137*, 11846–11853.