

学位論文題名

アスヒカズラ (*Lycopodium complanatum*) 由来新規
アルカロイドの構造研究

学位論文内容の要旨

ヒカゲノカズラ科植物(Lycopodiaceae)は、シダ類に属し、多彩な環骨格を有するリコポジウムアルカロイドを含むことで知られており、構造解析ならびに全合成研究のターゲットとして注目を集めてきた。また、生物活性については huperzine A に強力なアセチルコリンエステラーゼ阻害活性を有することが知られており、認知症や記憶減退の改善に有効であるという報告がなされている。当研究室では、リコポジウムアルカロイドのユニークな構造に興味を持ち、これまで種々のヒカゲノカズラ科植物より多くの新規骨格アルカロイドを単離、構造解析してきた。なかでも、アスヒカズラ(*L. complanatum*)より単離した lyconadin A は、他のリコポジウムアルカロイドと直接の生合成的関連性を持たないユニークな骨格を持つ化合物であり、興味深い骨格を持つアルカロイドがさらに存在する可能性が示唆された。これを受け、アスヒカズラのさらなる成分検索を行った。

ユニークな骨格のアルカロイドを探索する場合、微量成分に着目する必要があるため、新規アルカロイドを含む画分をいかに見分けるかが課題となった。そこで、NMR 分析法の一つである HMQC(heteronuclear multiple quantum coherence)スペクトルをケミカルスクリーニングに適用した結果、6種の新規アルカロイド lycopladine H, lyconadin C-G を単離した。また、従来の ESI-MS スペクトルを指標とした分離においては、3種の新規アルカロイド lycopladine F-G, complanadine E を単離した。各種スペクトルデータの解析に基づいて新規アルカロイドの構造を明らかにした。

まず、HMQC スクリーニングについて、これまで報告のあるリコポジウムアルカロイドを環骨格別に分類し、窒素原子隣接のメチレン、およびメチンのケミカルシフト値について HMQC スペクトル様のデータベースを作成したところ、環骨格をケミカルシフトのパターンで識別できることを見出した。アルカロイド画分をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィーで粗分けしたフラクションについて HMQC スペクトルを測定後、 δ_H 2.0-5.0, δ_C 40-70ppm の領域に注目し、データベースにはないパターンを示すクロスピークを指標として分離精製を進めた結果、lycopladine H, lyconadin C-G を見出すことができた。

続いて、抽出および分離精製であるが、2007年北海道名寄にて採取したアスヒカズラ(*L. complanatum*)の全草 2.3kg (dry weight) を MeOH で抽出し、アルカロイド分配により得られたクロロホルム可溶画分をアミノシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離した。得られたフラクシ

オンについて HMQC スクリーニングを指標に精製を進めた結果、6 種の新規アルカロイド lycopladine H, lyconadin C-G を単離した。また、アルカロイド画分の一部を ESI-MS スペクトルを指標に LH-20、シリカゲルカラムおよび C_{18} HPLC で精製した結果、3 種の新規アルカロイド lycopladine F-G, complanadine E を単離した。

次に新規アルカロイドの構造解析について、lycopladine H の構造は、2D NMR の解析により azocane 環、bicyclooctane 環および、3-piperidinone 環から構成されるユニークな四環性の骨格を有する新規アルカロイドであることが明らかとなった。Lyconadin C は、2D NMR の解析の結果、 α -pyridone 環、piperidine 環、cyclohexane 環、cycloheptane 環から構成される、四環性の骨格を有する新規アルカロイドである。この環骨格は冒頭で述べた既知化合物 lyconadin A の直接の生合成関連化合物であることを示唆する初めての化合物である。また、lyconadin C は、NMR および量子化学計算の結果、分子内で C-H \cdots N の弱い水素結合を形成していることが示唆され、これは低分子の天然有機化合物として初めての例である。Lyconadin D は、各種スペクトルデータより、既知化合物 fastigiatine の N-1-脱アセチル、1 位ケト体、lyconadin E は、lyconadin D の脱 N-メチル体であるとそれぞれ帰属した。アスヒカズラから fastigiatine タイプの骨格のアルカロイドが単離されたのは今回が初めてである。Lyconadin F (5) は、2D NMR の解析により lyconadin A の N-1-C-5 結合が開裂した、新規四環性骨格をもつアルカロイドであると帰属した。Lyconadin G (6) は、lyconadin F (5) のヘミアミナル型の互変異性体であることが明らかとなった。Lyconadin F および G の絶対配置は、不斉全合成により絶対配置が決定されている既知化合物 lyconadin B との化学相関により帰属した。

Lycopladine H, lyconadin C-E はいずれもサンプル量が少なく、誘導化等の有機化学的手法を用いて絶対配置の帰属を行うことは困難であった。そこでリコポジウムアルカロイドの rigid な環骨格の特徴を活かし、TDDFT (時間依存性密度汎関数法) による ECD スペクトルの計算を行ったのち、実測値と比較することで絶対立体配置を帰属した。リコポジウムアルカロイドの絶対配置の議論に量子化学計算を導入したのは今回が初めての例である。

Lycopladine F は、2D NMR の解析の結果、既知化合物 lycodine の 2 位に γ -アミノ酪酸 (C_4N ユニット) が結合した構造であり、改良 Mosher 法により、17*S* 体と 17*R* 体の 3.5 : 1 の混合物であると帰属した。また、lycopladine G は、lycopladine F の 17 位ケト、20 位メチルエステル体と帰属した。Complanadine E (9) は、lycodine と flabellidane 骨格の化合物の二量体で、既知化合物 complanadine A の N, 1, 2, 3, 4, 5-ヘキサヒドロ体と帰属した。

以上をまとめると、今回著者は、北海道産アスヒカズラ (*Lycopodium complanatum*) より 9 種の新規アルカロイド lycopladine F-H, lyconadin C-G, complanadine E を単離し、これらの構造を、各種 2D NMR、量子化学計算、化学相関により、lycopladine H および lyconadin C-G は絶対配置、lycopladine F-G および complanadine E は相対配置まで帰属した。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 小 林 淳 一
副 査 教 授 佐 藤 美 洋
副 査 准教授 齋 藤 望
副 査 准教授 久保田 高明

学 位 論 文 題 名

アスヒカズラ (*Lycopodium complanatum*) 由来新規 アルカロイドの構造研究

ヒカゲノカズラ科植物はシダ類に属し、多彩な環骨格を有するリコポジウムアルカロイドを含むことで知られており、構造解析ならびに全合成研究のターゲットとして注目を集めてきた。また、リコポジウムアルカロイド・ヒューペリジン A は強力なアセチルコリンエステラーゼ阻害活性を示し、認知症や記憶減退の改善に有効であるという報告がなされている。

著者は、リコポジウムアルカロイドのユニークな構造に着目し、従来のリコポジウムアルカロイドとは異なった炭素骨格を持つリコナジン A が単離されているアスヒカズラに注目し、新しい炭素骨格を有するリコポジウムアルカロイドの検索を行った。

HMQC スクリーニングによる新規リコポジウムアルカロイドの探索

新しい炭素骨格のアルカロイドを探索する際、新規アルカロイドを含む画分を、いかに早い段階で見分けるかが課題となる。著者は、2D NMR 測定法の一つである HMQC スペクトルを用いて、新規リコポジウムアルカロイドが含まれる可能性の高い画分を迅速に見分けるシステムを構築した。

即ち、既知のリコポジウムアルカロイドを環骨格別に分類し、窒素原子隣接のメチレンおよびメチンのケミカルシフト値について HMQC スペクトル様のデータベースを作成し、環骨格をクロスピークのパターンで識別できることを見い出した。複数のアルカロイドを含む画分について HMQC スペクトルを測定後、データベースにないクロスピークを指標として分離、精製を進めた結果、新規アルカロイド・リコプラジン H およびリコナジン C~G を単離した。

新規リコポジウムアルカロイドの分離

北海道名寄にて採取したアスヒカズラ全草の MeOH 抽出物のうち、アルカロイドを含む画分について HMQC スクリーニングを指標に精製が進めた結果、6 種の新規アルカロイド・リコプラジン H およびリコナジン C~G を単離した。一方、アルカロイドを含む画分について、ESIMS スペクトルで観測さ

れた分子量を指標として精製を進めた結果、3種の新規アルカロイド・リコプラジン F~G およびコンプラナジン E を単離した。

新規リコポジウムアルカロイドの構造解析

2D NMR の解析により、リコプラジン H の構造は、アゾカン環、ピシクロオクタン環および、3-ペリジノン環から構成されるユニークな四環性の新規アルカロイドであり、リコナジン C は、 α -ピリドン環、ピペリドン環、シクロヘキサン環、シクロヘプタン環から構成される、四環性の新規アルカロイドであることを明らかにした。リコナジン C は、NMR および量子化学計算から、低分子の天然有機化合物では報告のない分子内の C-H \cdots N の弱い水素結合を形成している可能性が見い出された。一方、リコナジン D は既知化合物ファスティジアチンの N-1-脱アセチル、1 位ケト体、リコナジン E はリコナジン D の脱 N-メチル体であると帰属した。アスヒカズラからファスティジアチンタイプの骨格を有するアルカロイドが単離されたのは初めてである。リコナジン F はリコナジン A の N-1-C-5 結合が開裂した、新規四環性骨格をもつアルカロイドであり、リコナジン G はリコナジン F のヘミアミナール型の互変異性体であると帰属した。リコナジン F および G の絶対立体配置は、不斉全合成により絶対立体配置が決定されている既知化合物リコナジン B との化学相関により帰属した。リコプラジン F は既知化合物リコジンの 2 位に γ -アミノ酪酸が結合した構造であり、改良 Mosher 法により 17*S* 体と 17*R* 体の 3.5 : 1 の混合物であると帰属した。また、リコプラジン G はリコプラジン F の 17 位ケト、20 位メチルエステル体と帰属した。コンプラナジン E は既知化合物コンプラナジン A の N,1,2,3,4,5-ヘキサヒドロ体と帰属した。

量子化学計算を用いた新規リコポジウムアルカロイドの絶対立体配置の解析

リコプラジン H およびリコナジン C~E は、いずれもサンプル量が少なく、誘導化等の有機化学的手法を用いて絶対立体配置の帰属を行うのは困難であった。そこで著者は、TDDFT（時間依存性密度汎関数法）による ECD スペクトルの計算を行ったのち、実測値と比較することで絶対立体配置を推定した。リコポジウムアルカロイドの絶対立体配置の議論に量子化学計算が導入されたのは今回が初めての例である。

まとめ

著者は、ヒカゲノカズラ科植物のアスヒカズラより、9 種の新規アルカロイド・リコプラジン F~H、リコナジン C~G、およびコンプラナジン E を単離し、これらの構造をリコプラジン H およびリコナジン C~G は絶対立体配置、リコプラジン F~G およびコンプラナジン E は相対立体配置まで帰属している。

本研究は天然物化学の分野で優れた研究成果を上げたものといえる。よって著者は、北海道大学博士（生命科学）の学位を授与される資格あるものと認める。