海綿由来アルカロイドの光学活性

川添和義、澁谷博孝

Optical Property of Alkaloids Isolated from Marine Sponge

Kazuyoshi KAWAZOE and Hirotaka SHIBUYA

ABSTRUCT

Nine new alkaloids [named aragusponginе B−J and aragupetrosine A] and two known alkaloids [petrosin and petrosin A] were isolated from an Oknawan marine sponge *Xestospongia* sp. By HPLC analysis using a chiral adsorbent, it has been found that those alkaloids are devided into three classes; 1) obtained as a single enantiomer [aragusponginеs F, G,H, J, aragupetrosine A], 2) obtained as an enantiomeric mixture [aragusponginеs B, D, E, petrosin], and 3) obtained as mesomeric form [petrosin A].

This evidence warns us against the optical property of natural products isolated from marine organism, from bacteria and also from plant resource.

1．はじめに

1815年、Biotは、ぶどう酒中に生じる酒石酸に面偏光を回転させる能力のあることを発見した[1)]。その後、Pasteurは、天然から得られた酒石酸ナトリウムアンモニウム塩の結晶を＋体と－体とに分割することに成功し、天然に「右」と「左」の存在することを示した[2)]。それ以来、天然物化学を論じる上で、光学活性の問題は、避けて通ることができなくなった。21世紀を迎えようとする現在に至るまで、立体化学は天然物研究の課題であり続け、今では、むしろ、有機合成化学の最も重要なテーマであるとさえいえる。なぜなら、「右」と「左」の問題が、単に化学構造上のものだけではなく、それが生体に大きく関与しているということが判ってきたからである。我々人類を含め生物は全て、アミノ酸及び糖をはじめとする構成成分から成るが、それらはいずれも光学活性である。即ち、生物は「光学活性体」であり、不斉を認識し、光学活性な化合物を合成することができるのであ

る。

ところが、天然物化学の研究上、立体化学の問題は難関の一つであり、容易に解決しないことが多い。それは、グルコースとガラクトースのように、化学的にも、物理的にも性質の全く異なった関係のジアステレオマー化合物を識別するのは簡単であるが、鏡像体（エナンチオマー）の区別は、Biotが19世紀初頭に用いた方法、つまり、旋光度に頼るしかないためである。すなわち、旋光性の違いが唯一の手がかりであり、その結果で、光学活性な化合物を右旋性、左旋性に分けているのである。しかし、これにはいくつかの大きな問題が含まれている。すなわち、1)光学活性な化合物の中には旋光性が著しく小さいものがある　2)化学構造から旋光度の絶対値を予測できないため、光学活性な化合物を得たとしても、その化合物に対するエナンチオマーがないかぎり、光学的に純粋であるとは断言できないということになる。特に、後者の問題は、これまで天然物化学の研究者が見逃しかけていたことで、事実、近年、比率の異なったエナンチオマーの混合物が天然物から見い出されてきた。そこで、本総説では、光学純度が論点となった、海綿動物由来のアルカロイド成分の構造研究を例に取り、天然物化学の光学活性をめぐる問題について述べたい。

2．天然有機化合物と光学活性

前述の通り、植物を含め、生物は全て「光学活性体」であり、これらは、光学活性な代謝産物を産生することが可能なのである。すなわち、生合成はほとんどの場合が不斉合成であり、これは、生合成に関わる酵素や反応場が光学活性であることに由来している。例えば、生体内で還元反応を行う補酵素の一つにNAD^+(nicotinamide adenine dinucleotide)があるが、還元反応は、この還元型であるNADHのニコチン酸アミドの4位水素が基質に転移することで行われる(Chart 1)。ところが、二つの4位水素は区別され、常に一方の水

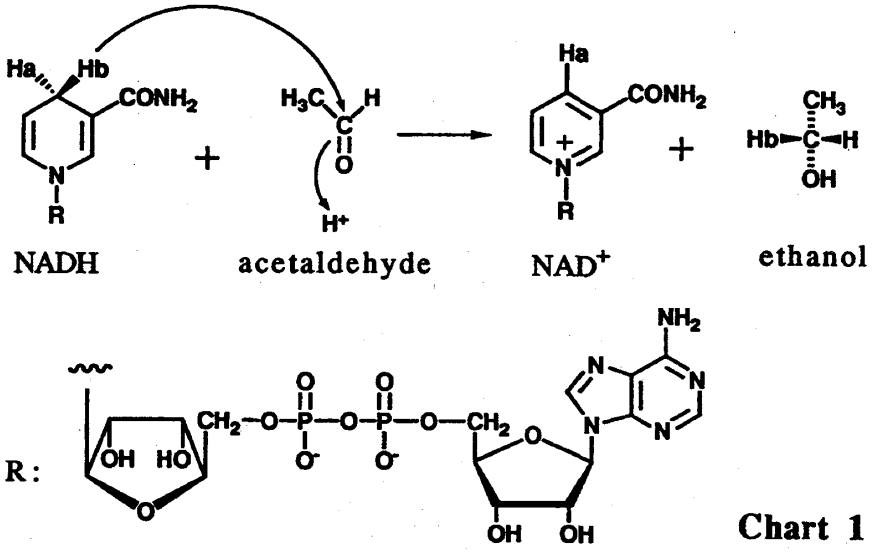


Chart 1

素(Chart 1のHb)のみがヒドリドイオンとして反応に預かっていることが判っている。さらに、アセトアルデヒドなどのカルボニル基に水素が付加する際、ヒドリドイオンの攻撃面は一方のみに起こることも判っている。つまり、この還元反応は完全に立体制御を受けたもので、反応の立体化学的過程がこのように制御を受けるのは、酵素の光学活性な表面で試薬（基質と補酵素）が特異な配向をするからである。この例のように、生合成の場合は、非常に厳密に立体化学を規制しながら進行することが判っている。

このように、生物は「右」と「左」を区別し、互いを全く異なる化合物として扱っていると考えられ、「右」もしくは「左」のどちらかのみを産生する生合成経路のみを持つ場合が多い。したがって、平面構造は同じでも、エナンチオマーの関係にあるものが、全く異なる生物から得られることがある。例えば、クスノキ科のクスノキ(*Cinnamomum camphora*)から得られたcamphorは右旋性であるが、キク科のヨモギギク(*Tanacetum vulgare*)からは左旋性のものが得られる。また、ケシ科植物から得られるアルカロイドpapaverineは(−)-reticulineを経て生合成されるが、そのエナンチオマーである(＋)-reticulineからはberberineなどの全く異なるアルカロイドが生合成されることも判っている。植物間だけではなく、植物と動物の間でも知られていて、例えば、ウコギ科のハリブキ(*Oplopanax japonicus*)から得られているoplopanoneのエナンチオマーである*ent*-oplopanoneが、*Nephtea*属の八放サンゴから単離されている3)。

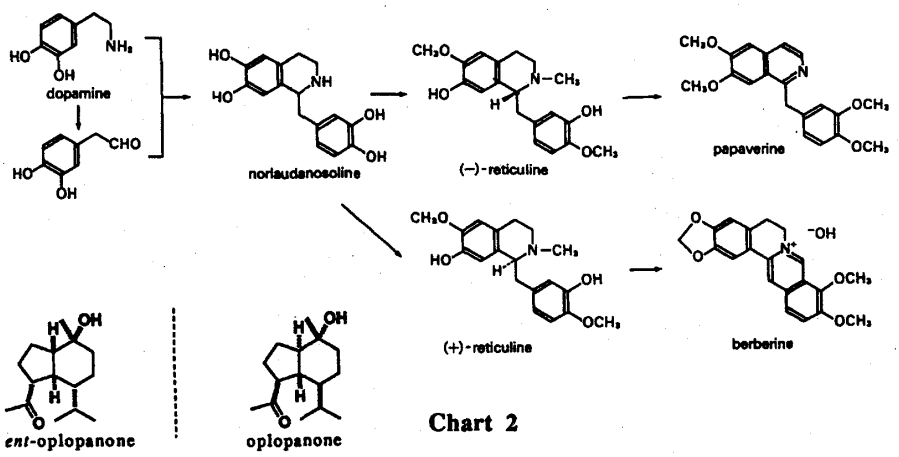


Chart 2

一方、同じ生物から「右」と「左」が同時に得られる場合がある。これは、生合成上、混ざってしまうケースと、ベラドンナ(*Atropa belladonna*)から得られるatropineのように、天然には光学的に単一な(−)-hyoscyamineの形で存在していたものが、抽出時にラセミ化してしまうケースがある。前者の場合は、「右」と「左」が1:1で混ざってラセミ体となっているのが普通である。このように、生物の生合成経路を考えると、天然に存在するの有機化合物は、光学活性を示さないもの、光学的に単一のもの、そして、ラセミ体のいずれかに分類できると考えられる。ところが、著者らは、海綿動物由来の天然物の中に、

今までにはなかったような光学的性質を持つ一連の化合物を見い出した。以下、その化学構造研究4a,4b)について、光学活性に関する考察を中心に紹介する。

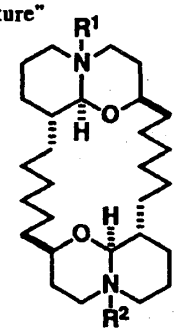
3．*Xestospongia*属海綿から得られたアルカロイド類の化学構造と光学活性

3－1． Aragusponginе類の化学構造と光学活性

研究に用いた*Xestospongia*属の海綿は、沖縄県の八重山諸島に属する新城（あらぐすく）島周辺の珊瑚礁域で採集したものである。この海綿を80％アセトン冷浸後、酢酸エチル、n－ブタノールで分配し、カラムクロマトグラフィーで精製することにより、aragusponginе B(**2**), C(**8**), D(**1**), E(**3**), F(**4**), G(**5**), H(**6**), J(**7**)およびaragupetrosine A(**9**)と命名した９種の新規アルカロイドの他、２種の既知アルカロイドpetrosin(**12**)およびpetrosin A(**11**)を単離した(Chart 3)。このうち、まず、これらアルカロイド成分の主成分として得られたaragusponginе D(**1**)について説明する。

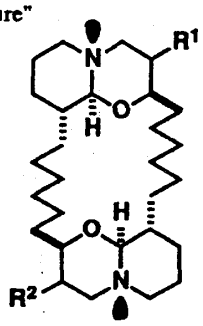
Aragusponginе D(**1**)は、質量分析からその組成が$C_{28}H_{50}N_2O_2$であることが判明し、赤外吸収(IR)スペクトルにおいてBohlmann吸収[5]が観られた。Bohlmann吸収は、*trans*-quinolizidine環のように、窒素の非共有電子対に対し、２つ以上の隣接した*trans* C-H結合がある場合に観測される特徴的な吸収である。さらに、aragusponginе D(**1**)は^{13}C NMRにおいて14本のシグナルしか観測されず、また、旋光性を有していることから、C2対称を持つことが判明した。そこで、物理データを詳細に検討したところ、aragusponginе D(**1**)は、先にオーストラリア産海綿 *Xestospongia exigua*から血管拡張作用物質として単離され、その相対構造が明らかにされている大環状アルカロイドxestospongin A[6]と、NMR、IR等のデータから同一平面構造であることが判った。しかし、xestospongin Aが$[\alpha]_D$ +10°(CHCl3)の比旋光度を示すのに対し、aragusponginе D(1)の比旋光度は$[\alpha]_D$ -5.1°($CHCl_3$)と大きく異なっていた。旋光性は、一般には非常に小さいことが多いため、比旋光度は、測定の温度、溶媒の種類他、わずかな測定環境の違いで差異を生じる可能性がある。しかし、この場合、aragusponginе D(**1**)がxestospongin Aのエナンチオマーであれば-10°の比旋光度を示すはずであるが、測定値はこの値より大きくずれている。したがって、aragusponginе D(**1**)は、光学的に単一なものではなく、＋体と－体の比率が異なっているエナンチオマーの混合物であると考えられた。エナンチオマーは、通常のクロマトグラフィーでは分離が不可能であるが、光学活性を有する素子を結合させた担体を用いると、これが可能となる場合があり、現在、HPLC用のカラムとしてこのような光学活性なカラムが商品化されている。そこで、光学活性カラムとして販売されているCHIRALCEL OF（ダイセル化学社製）を用いて、aragusponginе D(**1**)の分析を行ったところ、２本のピーク(**1a**および**1b**)が観測された(Chart 4)。それらは、NMR、IRで全く同一のスペクトルを与え、比旋光度のみが異なっているため、それぞれはエナンチオマー

"enantiomeric mixture"

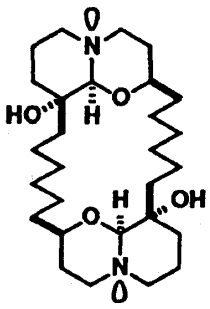


	R^1	R^2
araguspongine D (1) [(+)-D =xestospongin A]	●	●
araguspongine B (2)	○	○
araguspongine E (3)	○	●

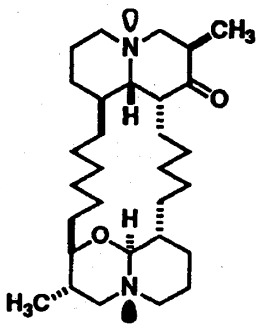
"optically pure"



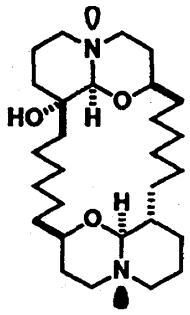
	R^1	R^2
araguspongine F (4)	α-CH_3	H
araguspongine G (5)	β-CH_3	H
araguspongine H (6)	β-CH_3	α-CH_3
araguspongine J (7)	β-CH_3	β-CH_3



araguspongine C (8)

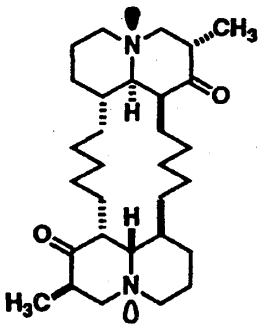


aragupetrosine A (9)



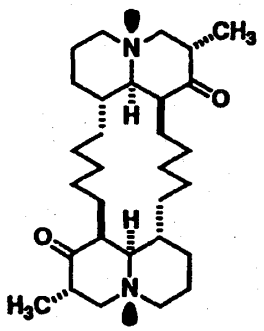
araguspongine A (10)
[= xestospongin D]

"mesomeric"



petrosin A (11)

"enantiomeric mixture"



petrosin (12)

Chart 3

の関係であることが判明した。ところが、その混合比率はおよそ4:6であり、ラセミ体でも光学的に単一でもない、今までにないケースであることが判明した。一方、xestospongin Aについても同様の条件で分析を行ったところ、この場合は単一のピークを観測し、光学的に単一であることが判明した。このことは、同じ属の生物から相対構造が全く同じ化合物が得られても、絶対配置を明らかにするまで、安易に同じものであるといった結論を下すことができないことを示唆している。

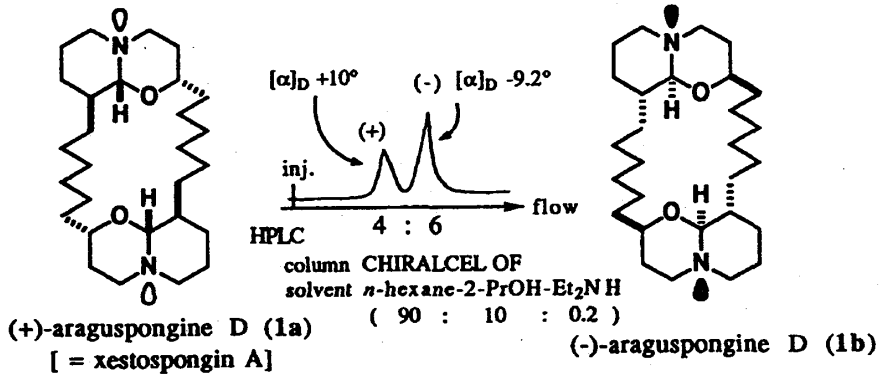
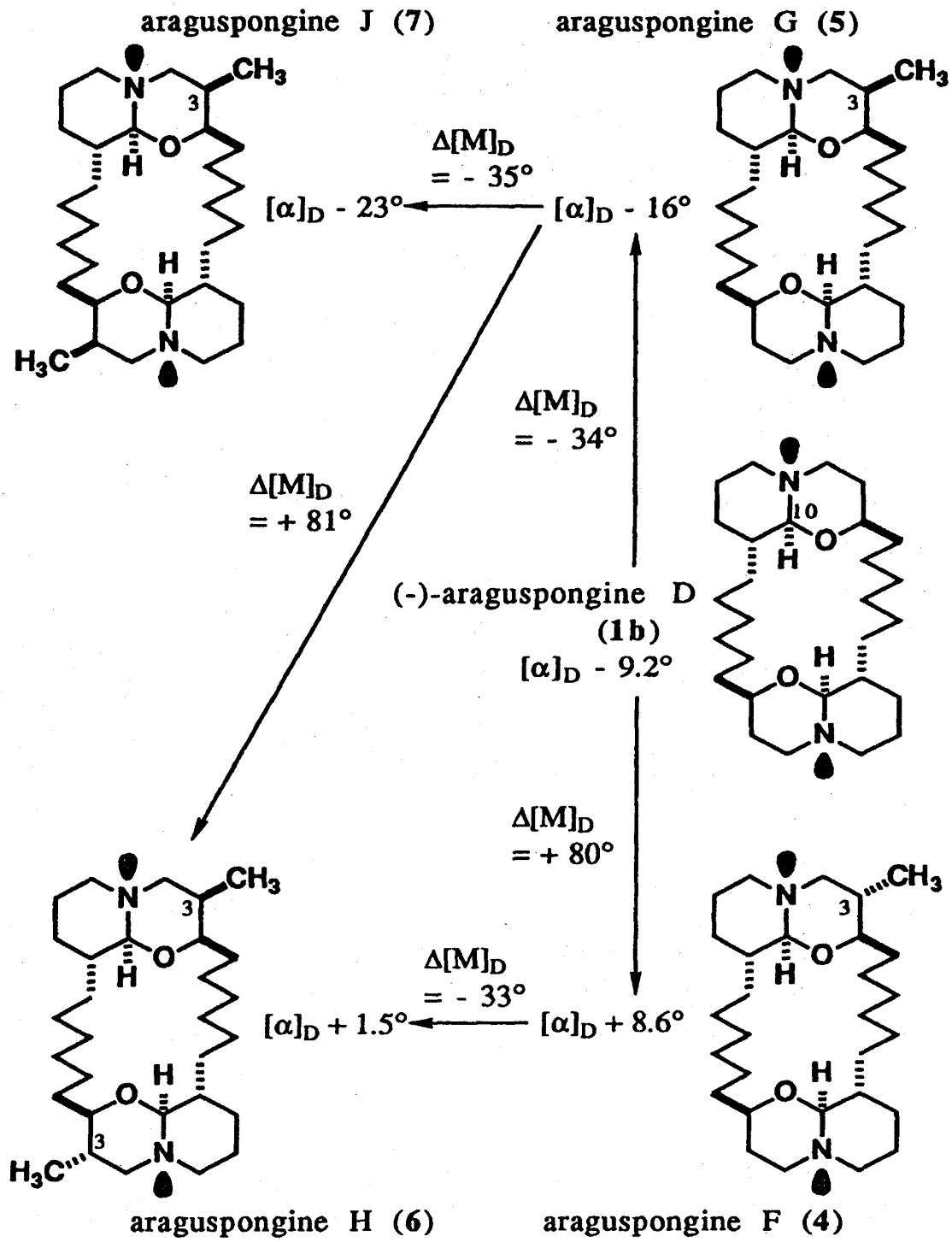


Chart 4

次に、他のアルカロイド成分であるaraguspongine F(4), G(5), H(6)およびJ(7)の化学構造であるが、これらはいずれもaraguspongine D(1)に1ないし2個のメチル基が置換したものであることが判った。そこで、NMR等の物理データを詳細に検討したところ、これらは、それぞれChart 3に示すような構造であることが判明した。さらに、aragusponginе F～Jについても光学活性カラムを用いたHPLC分析で光学純度を調べたところ、いずれも光学的に単一であることが判明した。一方、^{1}H NMRなどの解析から、これらアルカロイドの*trans*-1-oxaquinolizidine環はいずれも溶液中で同様のコンホメーションをとることが判った。そこで、Hudson則[7]の適用を試みるために、これらの分子旋光度（$\Delta[M]_D$）を比較したところ、Chart 5に示すように非常によい相関が見られた。このことから、これらアルカロイドはすべて、同じ絶対配置の骨格を有していることが明らかになった。

Hudson則は、古典的な方法であるが、aragusponginе類のように、絶対構造の決定が困難なものに対してしばしば用いられてきた。しかし、この法則を用いる上での大前提は、比較するものは全て光学的に単一でなければならないということである。したがって、これまで本法則を用いて絶対構造が決定されている化合物であっても、その光学純度に関して議論されていないものについては、再検討する余地があると思われる。なお、これらアルカロイドの絶対配置については、まず、aragusponginе J(7)をジオール体(**13**)に誘導した後、Horeau法[8]を適用してaragusponginе J(7)の絶対配置を決定することにより明らかにした(Chart 6)。



Increments $\Delta[M]_D$ for 3β(or 3'β)-CH_3 = -33°～ -35°

3α(or 3'α)-CH_3 = +80°～ +81°

Chart 5

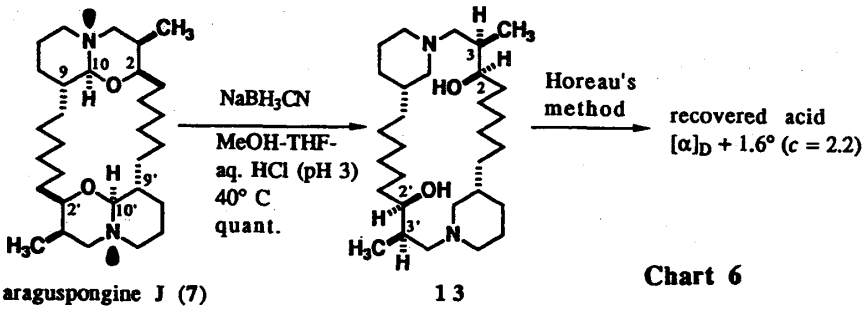


Chart 6

Aragusponginе B(2)およびE(3)は、いずれも、aragusponginе D(1)と同じ組成を有し、アルミナに吸着させて加温するとどちらもaragusponginе D(1)に変化することが明らかになった。そこで、NMR等種々の物理データの解析を行ったところ、aragusponginе E(3)は、aragusponginе D(1)の一方の1-oxaquinolizidine環が*cis*型になったものであり、aragusponginе B(2)は両方が*cis*型になったものであることが判明した。また、比旋光度は、aragusponginе E(3)は[α]$_D$ −1.1°($CHCl_3$)、aragusponginе B(2)は[α]$_D$ −0.8°($CHCl_3$)であった。そこで、これらについても光学活性カラムを用いたHPLC分析を行ったところ、aragusponginе E(3)は約1:1で、aragusponginе B(2)は約6:4で一体と十体が混合していることが判明した。また、(−)-aragusponginе E(**3a**)および(−)-aragusponginе B(**2a**)をアルミナ上で異性化させると(+)-aragusponginе D(**1a**)のみが生成し、(+)-aragusponginе E(**3b**)および(+)-aragusponginе B(**2b**)からは(−)-aragusponginе D(**1b**)のみが生成したことから絶対構造の関係も明らかになった(Chart 7)。以上のことから、aragusponginе BやEのように天然から得られたときに比旋光度の値が小さい場合、ラセミ体であるかどうかの判断は、他の手段で確認しなければならないことが示唆される。また、aragusponginе C(8)およびA(**10**)は、NOESYその他種々のスペクトルデータから、Chart 3に示すような構造であることが判明した。さらに、これらはいずれも光学的に単一であることも判明した。

3－2．　Petrosin類およびaragupetrosine Aの構造と光学活性　この海綿から得られた2種の既知アルカロイドであるpetrosin A(**11**)およびpetrosin(**12**)は、いずれも2-oxoquinolizidine環を有する大環状アルカロイドであり、パプア・ニューギニア産海綿*Petrosia seriata*からこれらを得たBraekmanらは、petrosin A(**11**)[9b]はメソ体、petrosin(**12**)[9a]はラセミ体としてそれぞれ単離したと報告している。ところが、petrosin A(**11**)の比旋光度は0°であるが、petrosin(**12**)ではわずかに([α]$_D$ −0.5°)旋光性が確認されたため、もう一度光学純度を確認する必要があると考えた。これらは、いずれも光学活性カラムを用いたHPLC分析が困難であったので、次のような化学反応を行った。まず、それぞ

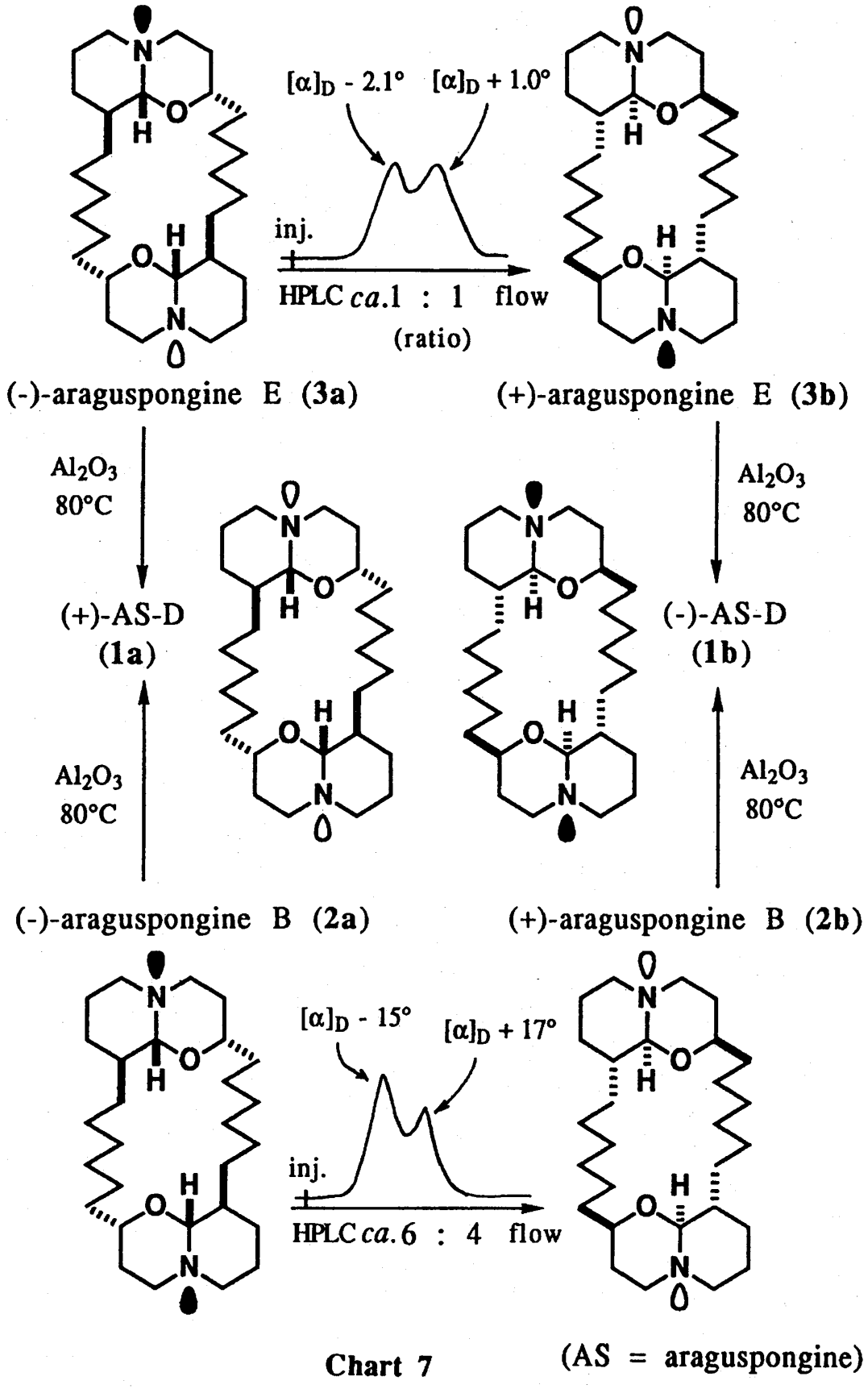


Chart 7

(AS = araguspongine)

れのカルボニル基を還元して、得られたジオール体を(+)および(−)-MTPA(2-methoxy-2-trifluoromethylphenylacetyl)[10c]エステルとした。MTPAは光学活性を有するため、ジオール体がラセミ体であれば、生成するエステルはジアステレオマー混合物となり識別可能となる。実際、petrosin(**12**)から得られたエステルは、(+)-MTPA、(−)-MTPAのどちらのエステルも順相のHPLCにより分離することができ、その比は、^{1}H NMRから56:44であることが判明した(Chart 8)。一方、petrosin A(**11**)では、(+)-MTPAからも(−)-MTPAからも唯一のエステルが生成し、それらがNMRにより区別できないことからメソ体の構造が確認された(Chart 9)。以上のことから、petrosin(**12**)は天然から完全なラセミ体ではなく、エナンチオマーがほぼ1:1に混合したエナンチオマー混合物として得られたことが明かとなった。

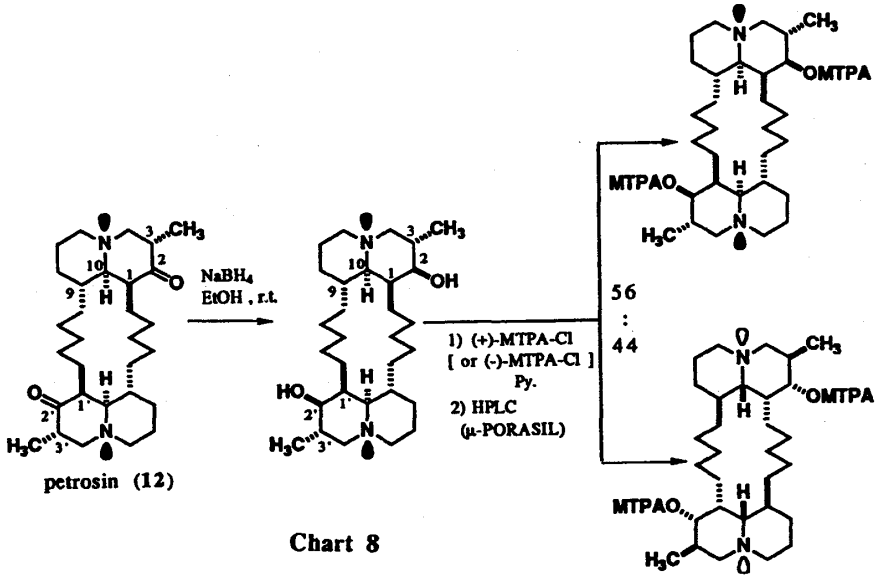


Chart 8

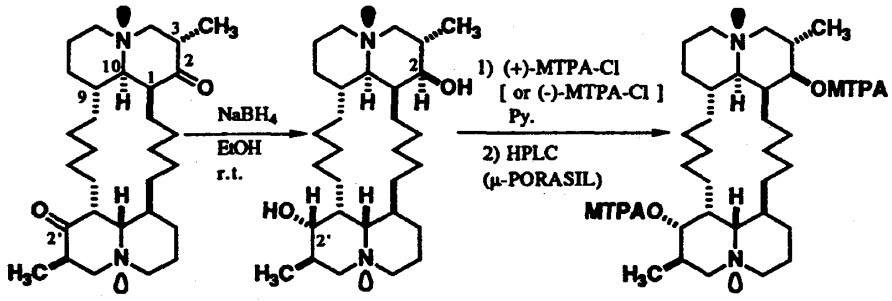


Chart 9

さらに、petrosin類とaraguspongine類の両方のユニットを持つ化合物が同じ海綿から単離された。Aragupetrosine A(**9**)[4b]と命名されたこのアルカロイドは、HOHAHAなど二次元NMRデータの詳細な解析から相対構造が明らかになり、改良Mosher法[10a,10b]によ

りその絶対構造が明らかになった。また、これは、光学的に単一であることも判明した。旋光度は構造を決定する上で重要になる場合があり、petrosin(**12**)とpetrosin A(**11**)の場合、部分構造である2-oxoquinolizidine環の相対配置はいずれも全く同じであり、^{13C}NMRではいずれも半分の数の炭素しか観測されない対称性の化合物である。しかし、petrosin(**12**)のようにC2対称をもてば旋光性があり、petrosin A(**11**)のようにメソ型化合物になれば旋光性はない。したがって、これらの判別には旋光度が大きな手がかりになり、petrosin(**12**)の場合のように、比旋光度の絶対値が小さい場合、エナンチオマーの混合物なのかメソ体（測定誤差）なのかを別の方法で確認する必要があると考えられる。

3－3．アルカロイド類の生合成経路に関する考察

*Xestospongia*属海綿から得られたアルカロイド類は、同一生物から単離された化合物群であるにも拘らず、光学的に単一な化合物と比率の異なるエナンチオマー混合物が共存するという、非常に興味深い光学的な性質を持つ化合物群であることが判った。ところで、前述の通り、生合成経路から考えると、光学活性な天然有機化合物は光学的に単一であるかラセミ体で得られると考えられる。それにも関わらず、今回のように比率の異なるエナンチオマーが得られたことから、このアルカロイド群の生合成経路に興味が持たれる。先にCiminoらは、異なる属の海綿を起源とするアルカロイドxestospongin類およびpetrosin類の構造上の類似性から、それらの大環状アルカロイドの生合成経路について考察している[11)]。著者らは、同一生物からこれら2群のアルカロイド類と、さらに、それらのハイブリッド型のアルカロイドを得たことから、Chart 10に示すような生合成経路を推定した。すなわち、2個のpiperidine環がn＝9の炭素鎖2本で連結された生合成中間体**b**から、γ位が酸化された中間体**c**, **d**, **e**を経て環化の後、メチル化や水酸化され、これらのアルカロイド類が生合成される経路である。ここで、aragusponginе D(**1**), B(**2**)およびE(**3**)がエナンチオマー混合物として得られるのは、生合成前駆体**a**が二量化して中間体**b**に変換される時点でエナンチオマー混合物になっているためと推定される。一方、aragusponginе F(**4**), G(**5**), H(**6**), J(**7**), C(**8**)およびaragupetrosine A(**9**)が光学的に単一な化合物として得られるのは、それらの生合成中間体と考えられる**c**および**d**（いずれもここではエナンチオマー混合物と推定される）（あるいは環化後）において、1－oxaquinolizidine環のメチル化や水酸化が、エナンチオ面選択的に進行するためと推定される。また、petrosin A(**11**)やpetrosin(**12**)は生合成中間体**e**を経て、2-oxoquinolizidine環の3位となる位置でメチル化されて生合成されると考えられるが、これらのメチル化反応ではエナンチオ面選択性はみられず、その立体化学的な過程については推定するには至っていない。海綿のような海洋生物は、海水中に生息しているため、陸上の生物とは異なっ

"optically pure"	R^1	R^2
aragusponginе F (4)	α-CH_3	H
aragusponginе G (5)	β-CH_3	H
aragusponginе H (6)	β-CH_3	α-CH_3
aragusponginе J (7)	β-CH_3	β-CH_3

"enantiomeric mixture"	R^1	R^2
aragusponginе D (1) [(+)-D =xestospongin A]	●	●
aragusponginе B (2)	O	O
aragusponginе E (3)	O	●

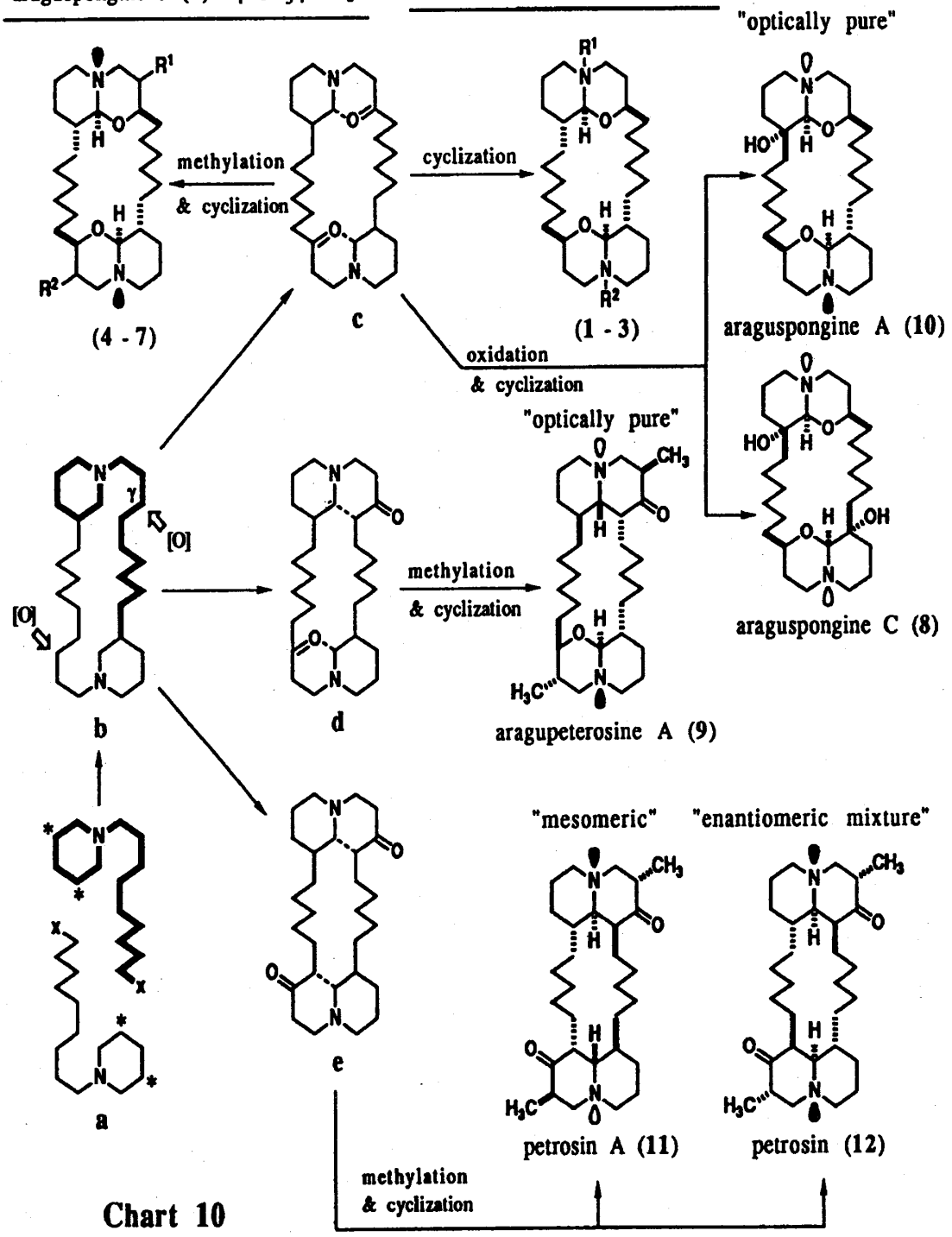


Chart 10

た代謝経路を持っている可能性がある。それだけに、これまで考えられなかったような代謝産物を産生しているものもある。陸上生物の生合成に関しては、かなり広く研究されているが、海洋生物に関しては、麻痺性貝毒のサキシトキシン等が研究されている[12]他は、未だ、ほとんど解明されていないのが現状である。これは、生物系が複雑であるだけでなく、食物連鎖や共生の問題がいつもつきまとっていて、陸上生物で確立されている生合成研究の手続きが簡単には応用できないためである。しかし、今回紹介したアルカロイドのように、化学構造と光学活性の両面から考えると、生合成経路についても新しい知見が得られると思われる。

4．おわりに

現在、天然物質の化学構造研究は、測定機器の精度の向上とNMRの新しい手法の開発によって飛躍的に進み、微量成分であってもその化学構造は、以前とは比較にならないほど迅速に解明されるようになっている。しかし、一方では微量成分であるが故に、その光学的な性質についての検討が不十分になりつつあるのも事実である。今回、例として取り上げたaraguspongine類は、その警鐘ともいえる。即ち、同一生物から単離された化合物群であっても、光学的に単一の化合物や比率の異なるエナンチオマー混合物が共存する可能性があるということである。これまで、その絶対配置についてはよく議論されてきたが、光学純度については余り関心が持たれていないことが多かった。しかし、今後は、天然物質の化学構造研究において、その絶対構造を決定するばかりでなく、その光学純度も考慮して十分議論する必要性があるといえる。生体は「光学活性体」であり、もちろん人体も例外ではなく、「右」と「左」を確実に区別している。したがって、医薬品の創製を考える上で、有機化合物の光学的性質に関する議論は避けて通るわけには行かないことであり、天然物化学が創薬研究のパイオニアとするならば、今後、より精密な化学構造研究が求められる。

参考文献

1) J. -B. Biot, *Bull. Soc. Philomath. Paris*, 190 (1815).

2) L. Pasteur, *Ann. Chimie et Physique*, **24**, 442 (1848).

3) I. Kitagawa, Z. Cui, B. W. Son, M. Kobayashi, and Y. Kyogoku, *Chem. Pharm. Bull.*, **35**, 124 (1987).

4) a) M. Kobayashi, K. Kawazoe, and I. Kitagawa, *Chem. Pharm.* Bull., **37**, 1676 (1989);

b) M. Kobayashi, K. Kawazoe, and I. Kitagawa, *Tetrahedron Lett.*, **30**, 4149

(1989).

5) F. Bohlmann, *Angew. Chem.*, **69**, 641 (1957).

6) M. Nakagawa, M. Endo, M. Tanaka, and G. Lee, *Tetrahedron Lett.*, **25**, 3227 (1984).

7) C. S. Hudson, *J. Am. Chem. Soc.*, **31**, 66 (1909).

8) a) A. Horeau, *Tetrahedron Lett.*, **15**, 506 (1961);

b) A. Horeau and H. B. Kagan, *Tetrahedron*, **20**, 2431 (1964).

9) a) J. C. Braekman, D. Daloze, and P. M. Abreu, *Tetrahedron Lett.*, **23**, 4227 (1982);

b) J. C. Braekman and D. Daloze, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **97**, 519 (1988).

10) a) T. Kusumi, I. Ohtani, Y. Inouye, and H. Kakisawa, *Tetrahedron Lett.*, **37**, 4731 (1988);

b) S. Takano, M. Takahashi, M. Yanase, Y. Sekiguchi, Y. Iwabuchi, and K. Ogasawara, *Chem. Lett.*, **1988**, 1827;

c) J. A. Dale, D. L. Dull, and H. S. Mosher, *J. Org, Chem.*, **34**, 2543 (1969).

11) a) G. Cimino, G. Scognamiglio, A. Spinella, and E. Trivellone, *J. Nat. Prod.*, **53**, 1519 (1990);

b) G. Cimino, S. D. Stefano, and G. Scognamiglio, *Bull. Soc. Chim. Belg.*, **95**, 783 (1986).

12) a) Y. Shimizu, M. Norte, A. Hori, A. Genenah, and M. Kobayashi, *J. Am. Chem. Soc.*, **106**, 6433 (1984);

b) Y. Shimizu, S. Gupta, M. Norte, A. Hori, A. Genenah, and M. Kobayashi, Proseedings of the Third International Conference on Toxic Dinoflagellates, P.271 (1985).