

平成22年6月22日現在

研究種目：基盤研究(C)
 研究期間：2007～2009
 課題番号：19510225
 研究課題名（和文） フルオラスタグ法によるペプチド性天然物およびそれら同族体の合成研究
 研究課題名（英文） Synthetic Studies of Peptide Natural Products and their Analogues by Fluorous Tag Method
 研究代表者
 中村 豊 (NAKAMURA YUTAKA)
 新潟薬科大学・応用生命科学部・准教授
 研究者番号：20267652

研究成果の概要（和文）：4つの異なるフルオラスタグを持つチアゾールアミノ酸誘導体をフルオラスミックスチャー合成法で調製した。このミックスチャーと4つの異なるオリゴエチレングリコールタグを有するオキサゾールアミノ酸誘導体を連結した。得られた16種類の化合物の混合物を2回の分離、脱タグ化によって16種類のヘキサペプチドを得た。最後にマクロ環化反応を行って海洋天然物ビストラタミドHとその非天然同族体の合成を達成した。

研究成果の概要（英文）：A mixture of thiazole amino acid derivatives that different four fluoruous tags was prepared by fluoruous mixture synthesis. The mixture of fluoruous-tagged thiazole amino acid derivatives was coupled with a mixture of oxazole amio acid derivative with four deferent oligoethylene glycol tags. The sixteen compound mixture was doubly demixed and detaged to provide sixteen hexapeptides. Finally, macrocyclization of these hexapeptides gave bistratamide H and fifteen unnatural analogues of bistratamide-type macrolactum.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	3,000,000	900,000	3,900,000
2008年度	500,000	150,000	650,000
2009年度	400,000	120,000	520,000
年度			
年度			
総計	3,900,000	1,170,000	5,070,000

研究分野：化学

科研費の分科・細目：複合化学・合成化学

キーワード：天然物有機化学、全合成、フルオラス化学

1. 研究開始当初の背景

1994年にHorvathとRabaiにより報告されたヒドロホルミル化反応での触媒のリサイクルの報告が端緒となるフルオラスケミストリーの研究は触媒化学や有機合成化学の分野にとどまらず周辺分野にも広がりを見

せ、現在ではフルオラスサイエンスと呼ぶべき一分野が形成されている。パーフルオロアルキル基を有するフルオラス化合物と非フルオラス化合物はフルオラス溶媒と有機溶媒による液-液抽出 (FLPE) やパーフルオロアルキル基で修飾されたシリカゲルを用い

た固相抽出によって簡単かつ迅速に分離することができる。このような分離特性を利用して Curran らはフルオラスタグ法を提唱し、この手法が固相合成法に匹敵する液相合成であることを示した。また、Curran らはコンビナトリアル合成法の新手法となるフルオラスミックスチャー合成法も開発し、560 種類のマピシン同族体の合成を達成した。さらに Curran らは、さらに多くの誘導体を合成するためにフルオラスタグとオリゴエチレングリコールタグを用いた二重標識法によるミックチャー合成法を考案した。このような中、国内外の研究者らにより既存の保護基のフルオラス化とその利用の研究が行われ、比較的単純なペプチドや糖鎖が迅速かつ効率よく合成できることが示された。筆者らも、アミノ基のフルオラス保護基を開発し、これを用いて海洋天然物ビストラタミド C と H の合成を検討し、迅速に標的化合物が得られることを示した。

一方、最近、海洋生物からくすりの種を見出そうという研究が盛んに行われており、新奇な化合物が見出されている。これらの中には非タンパク構成アミノ酸以外のアミノ酸である異常アミノ酸を含むペプチド性の化合物も多数存在する。これらは抗腫瘍性、抗菌性、抗ウイルス性などの生物活性を有するが、一般的にこれら天然物は極微量成分であるため、詳細な生物活性を調査できないのが現状である。また、現在の分析機器および分析手法を駆使しても未だ絶対立体配置が確定できない天然物も存在する。そこで、有機合成的に天然物および構造活性相関の研究のために類縁体の合成が必須である。さらには作用機序解明に向けた分子プローブの創製が必要となる。このような観点からペプチド性の天然物の全合成研究も活発に行われている。

2. 研究の目的

タンパク構成アミノ酸からなるペプチドの合成では、過剰量の試薬を用いること、反応の追跡が困難であるなどの幾つかの問題があるにせよ固相合成法が液相合成法よりも優れている。ただし、微生物や海洋生物を基源とする天然物は、異常アミノ酸を含むことが多いため、これらを合成する場合には、含有する異常アミノ酸の合成は主として液相法で行い、調製したアミノ酸ユニットを固相法で連結する方法がよく行われている。一方、フルオラスタグ法は、液相の均一系で行われるため、大過剰の試薬を必要とせず、反応の追跡ばかりでなく合成中間体の同定も可能である。また、フルオラス中間体は FSPE で簡単に単離でき、晩合いによってはシリカゲルカラムクロマトグラフィーにより精製も可能である。さらにフルオラスミックスチャー合成法を用いれば、固相担体を用いたコ

ンビナトリアル合成と同様に多種類の同族体を入手することもできる。このようにフルオラスタグ法は固相合成と液相合成の両者の利点を兼ね備えた合成法である。海洋生物由来のペプチド性天然物はビストラタミド類のようにアミノ酸残基や立体配置などが異なる化合物群が存在すること、ペプチド化合物はアミノ基、カルボキシ基および側鎖に官能基を有していることからフルオラスタグ法ならびにフルオラスタグとエチレングリコールタグを用いる二重標識法の格好の標的化合物である。そこで、そこで、本研究はビストラタミド様天然物、リダイアマイシン類、ゴードスポリン、ノシヘプチド等ペプチド性天然物の迅速かつ効率的な全合成を目的として検討するものである。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するために以下の(1)から(3)の方法を行った。

(1) ビストラタミド H とその非天然物同族体のフルオラスダブルミックスチャー合成

L-および D-アラニンとバリンの N 末端にフルオラスタグとしてパーフルオロアルキル鎖長が異なるフルオラス Boc (^FBoc) 基 (C₄F₉, C₆F₁₃, C₈F₁₇, C₁₀F₂₁ の 4 種) を導入し、これらを等量ずつ混合する。混合物でチアゾールアミノ酸エステルへ誘導する。一方、L-および D-バリンのオキサゾールとメチルオキサゾール誘導体にエチレングリコール単位の異なるアルコール (HO(CH₂CH₂)_nOMe, n = 1, 2, 3, 4) でエステル化して、これらを等量ずつ混合する。この混合物の N 端に別途合成したチアゾールアミノ酸を縮合、ついで先に調製したチアゾールアミノ酸のフルオラスミッ

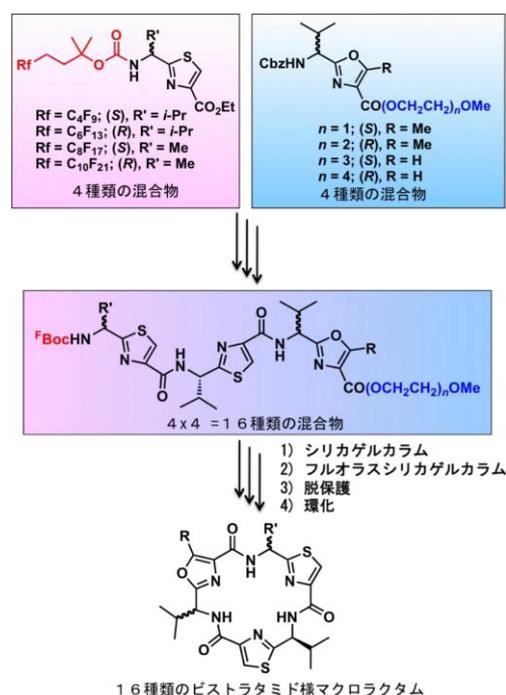


図1 ビストラタミド様マクロラクタムの合成計画

クチャーを縮合してヘキサペプチドの混合物とする(4×4=16種類)。ここで、エチレングリコール単位により4つのグループに分離、さらにフルオラス鎖長による分離を行って16種類の化合物を得、これらの両端保護基の除去後、閉環反応を行うことによってビストラタミドHおよび15種類の同族体を得る(図1)。

(2)フルオラスタグ法によるウルクタープルススタチンAの全合成研究

パラオ共和国の塩水湖の堆積物より採取された微生物の培養液から単離され、ヒトがん細胞に細胞毒性を有するウルクタープルススタチンAのフルオラスタグ法で合成について検討を行う。この化合物を特徴づける連続する5つのアゾール環骨格をビスオキサゾールチオアミド体と2'-プロモアセチルビスチアゾール体のハンチュ法によるチアゾール環形成を伴う連結により構築するという合成計画で、フルオラスタグに^tBoc基とフルオラスTIPS基を用いて検討を行う(図2)。

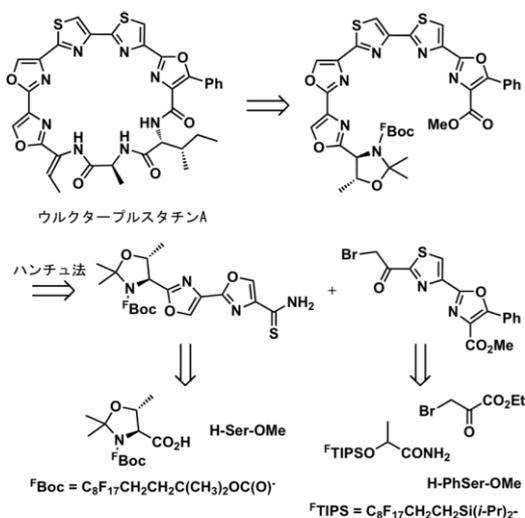


図2 ウルクタープルススタチンAの合成計画

(3)最近、抗マラリア性を有するマクロラクタムであるエルシクラミド類が淡水シアノバクテリアから見出され、これらの構造はビ

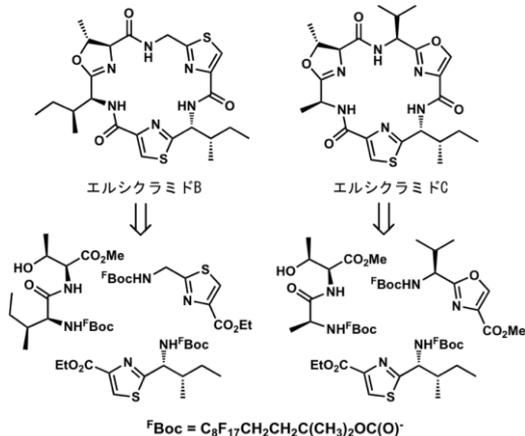


図3 エルシクラミドBとCの合成計画

ストラタミド類と酷似している。そこで、(1)と同様に^tBoc基をフルオラスタグにしてエルシクラミドBとCの合成を行う(図3)。

4. 研究成果

上記の方法(1)-(3)を検討した結果、以下の成果が得られた。

(1)エチレングリコール単位の異なるオリゴエチレングリコール(OEG)タグ4種とパーフルオロアルキル鎖長の異なるフルオラスタグ4種を利用した二重標識法でビストラタミドHとその同族体の合成を検討した。保護ヘキサペプチド16種類のミックスチャーとした後、シリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離すると、OEG単位にしたがって4つのミックスチャーに分画できた。この4つのミックスチャーのうち1つをフルオラスシリカゲルカラムクロマトグラフィーで分離するとパーフルオロアルキル鎖長の短い方から順に流出し、4つのヘキサペプチドに分離された。これらヘキサペプチドの保護基の除去後、閉環反応を行うとビストラタミドHと非天然同族体3種を好収率で与えた。この結果は、フルオラスダブルミックスチャー合成法がビストラタミド様マクロラクタムの合成に有効な手法であることを示すとともに、このタイプの化合物の世界で初めての液相のコンビナトリアル合成となった。今後、さらに多種類の化合物を一挙に得る方法への展開が必要である。現時点では、タグの種類を増やすことは難しいので、スプリット-プール法の利用が有望であると考えられる。また、ここで得られた化合物群の生物活性の評価にも期待が持たれる。

(2)^tBoc基で保護したスレオニンから調製したビスオキサゾールチオアミド誘導体とフルオラスTIPS基で保護した乳酸アミドから調製した2'-プロモアセチルビスチアゾール誘導体の改良ハンチュ法の条件でカップリングすると対応するペンタアゾールエステルが高収率で得られた。この化合物のエステルをけん化後、別途合成したジペプチドと縮

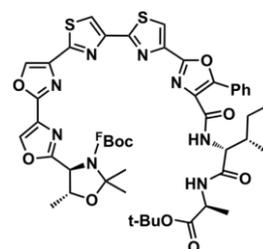


図4

を持つIB-01211の全合成は達成されているが、ウルクタープルススタチンAの全合成はまだ報告されていない。今後、全合成に向けて残った問題はマクロ環化反応と閉環後のプロペニル化だけである。

(3)^tBoc基をフルオラスタグとしてエルシクラミドBとCの構成単位となるチアゾール

ミノ酸エステル、オキサゾールアミノ酸エステルならびにオキサゾリンアミノ酸の前駆体となるアロスレオニンジペプチドを調製した。これらを順次連結して、保護ヘキサペプチドを得た。これらの両端保護基を除去後、高希釈条件下で閉環反応を行うことで環状ヘキサペプチドとした。これらをフッ素化剤で処理するとオキサゾリン環が形成され目的とするエルシクラミドBとCの全合成を達成した。フルオラス合成法が数十 mg 程度の目的化合物を迅速に入手できる優れた手法であることも示すことができた。また、この成果は未発表であるが、エルシクラミドBとCの最初の全合成である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計6件)

① Yutaka Nakamura, Saki, Ito, Masaru Kojima, Seiji Takeuchi, Synthetic Study of Urukthapelstatin A by fluororous Tag Method, 19th International Symposium of Fluorine Chemistry including International Symposium on Fluororous Technologies ' 09 (ISoFT' 09), 2009年8月26日, Jackson Lake Lodge, WY, USA

② 中村 豊、小田圭介、小島 勝、武内征司、フルオラスタグ保護基を用いた環状ペプチド Aerucyclamide 類の全合成研究、第1回フルオラス科学研究会(新潟)シンポジウム、2008年10月23日、新潟薬科大学

③ 中村 豊、伊藤早紀、小林 司、小島 勝、武内征司フルオラスタグ法によるウルクタープスタチンAの全合成研究、第1回フルオラス科学(新潟)シンポジウム、2008年10月23日、新潟薬科大学

④ 中村 豊、小林 司、柚木正人、小島 勝、武内征司、フルオラス保護基を用いた環状ペプチド urukthapelstatin A の合成研究、第55回有機合成化学協会間等支部シンポジウム(野田シンポジウム)、2008年5月10日、東京理科大学野田キャンパス

⑤ 中村 豊、太田美穂、小島 勝、武内征司、ビストラタミド様マクロラクタムのフルオラスダブルミックチャー合成、日本化学会第88春季年会(2008)、2008年3月26日、立教大学

⑥ 中村 豊、太田美穂、小島 勝、武内征司、オリゴエチレングリコールおよびフルオラスタグを用いたビストラタミド様マクロラクタムのミックチャー合成、第54回有機合成化学協会関東支部シンポジウム(新潟シンポジウム)、2007年12月2日、新潟薬科大学
[その他]

ホームページ等

<http://homepage.mac.com/yutakanakamura/My%20Website/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

中村 豊 (NAKAMURA YUTAKA)

新潟薬科大学・応用生命科学部・准教授

研究者番号：20267652

(2) 研究分担者

なし

研究者番号：

(3) 連携研究者

なし

研究者番号：