

## 科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 31 日現在

機関番号：31305

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2010～2011

課題番号：22890170

研究課題名（和文）抗結核作用を有するベルチヘミプテリド A の合成化学的研究

研究課題名（英文）Synthetic study of Vertihemiptellide A : an antimycobacterial agent

研究代表者

成田 紘一（NARITA KOICHI）

東北薬科大学・薬学部・助手

研究者番号：20584460

研究成果の概要（和文）：Isaka らによって、ヨコバイを寄主とする *verticillium hemipterigenum* BCC 1499 株の発酵液より単離・構造決定された、抗結核作用を有するユニークなジケトピペラジンダイマーである *vertihemiptellide A* の合成研究をおこなった。グリシン誘導体を出発物質として、ジケトピペラジンの  $\alpha$  位に水酸基を有する化合物を合成した。次いで、酸性条件下、 $\alpha$  位水酸基を利用して生成させたアシルイミニウムイオンに対する PMB-SH の付加反応によりスルフェニル基を導入することで *vertihemiptellide A* のモノマーに相当するエピジチオジケトピペラジン等価体の合成に成功した。

研究成果の概要（英文）：Vertihemiptellide A, a unique diketopiperazine dimer with antimycobacterial activity, was isolated from the insect pathogenic fungus *Verticillium hemipterigenum* BCC 1449 by Isaka and co-workers. The monomeric epidthiodiketopiperazine equivalent of vertihemiptellide A was synthesized from glycine derivative.  $\alpha$ -Sulfenylation of diketopiperazine was achieved by nucleophilic addition of PMB-SH to acyliminium ion generated in situ from  $\alpha$ -hydroxylated diketopiperazine under acidic condition.

交付決定額

（金額単位：円）

|         | 直接経費      | 間接経費    | 合計        |
|---------|-----------|---------|-----------|
| 2010 年度 | 1,260,000 | 378,000 | 1,638,000 |
| 2011 年度 | 1,080,000 | 324,000 | 1,404,000 |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 年度      |           |         |           |
| 総計      | 2,340,000 | 702,000 | 3,042,000 |

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・化学系薬学

キーワード：ベルチヘミプテリド A, 抗結核薬, 二量化反応, 全合成

## 1. 研究開始当初の背景

結核とは、Mycobacterium 属の細菌、主に結核菌 *Mycobacterium tuberculosis* により引き起こされる感染症である。我が国において結核は明治時代から昭和 20 年代までの長

い間、「亡国病」とまで言われるほど猛威をふるい、高い罹患率を示していた。約 50 年前までは年間死亡者数が 10 数万人に及び、死亡原因の第 1 位を占めていたが、第二次世界大戦後、結核予防法の制定、抗生剤を用

いた化学療法の普及などによって急速に減少し、「過去の病気」とまでみなされるようになった。

ところが、1997年から3年にわたり、罹患率、発生患者数ともに38年ぶりに増加し、結核は「再興感染症」として再び注目されるようになった。結核再興の要因の一つとして、結核菌の多剤耐性獲得が挙げられる。現在、結核の治療は薬物療法が主流であり、現在では Isoniazid, Rifampicin, Pyrazinamide, Ethambutol の4剤併用療法を行うべきであると考えられている。これら結核治療の第一選択薬のうち Isoniazid 及び Rifampicin の二剤に耐性を持つ菌は多剤耐性結核菌と呼ばれ、治療が困難になる。さらに近年では、第二選択薬として用いられる薬剤にまで耐性をもった超多剤耐性結核の出現により、治療不可能な結核が蔓延する可能性が示唆されている。超多剤耐性結核の治療薬はまだ開発されていない。従って、多剤耐性結核及び超多剤耐性結核に対する有効な治療薬の開発は急務と言える。

## 2. 研究の目的

Vertihemiptellide A (**1**) は2005年に Isaka らによってヨコバイを宿主とする *Verticillium hemipterigenum* BCC 1499 株の発酵液より単離、構造決定された天然物であり、ユニークなジケトピペラジン構造を有する (Org. Lett., 2005, 7, 2257-2260)。Gliotoxin (**2**) に代表されるジケトピペラジン構造の両方の  $\alpha$  位に硫黄原子が結合したエピポリチオジケトピペラジン類は、新菌の代謝産物として数多く知られているが、**1** はこれまでに無い結合様式、すなわち、二つのジスルフィド結合によって架橋された二量体を形成しているという構造上の特徴を有しており、生物活性としては抗結核作用を有することが報告されている (MIC = 12.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )。 **1** の全合成例は一例も報告されておらず、**1** はこれまでの抗結核薬とは全く異なる構造を有することから、新規抗結核薬のリード化合物として期待される天然物である (Fig. 1)。

そこで、本研究課題では我が国における結核の現状を踏まえ、新規抗結核薬のリード化合物として期待される Vertihemiptellide A (**1**) の完全化学合成の完結を第一目標にして研究を行う。特に、**1** のように二つのジスルフィド結合で架橋された二量体構造を有する天然物はこれまでに報告されていないので、このような二量体構造を効率良く合成する方法論の確立を目的とする。**1** を合成する方法論が確立されれば、種々の類縁体の合成が可能となり、**1** の生物活性発現機構の解明および構造活性相関に関する知見を得ることができ、新規抗結核薬の開発に繋がるものと考えた。

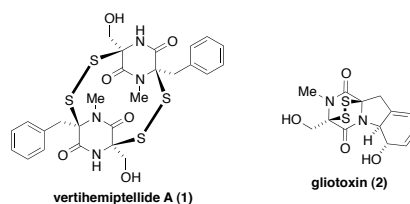
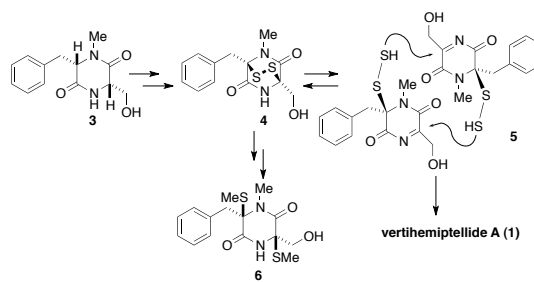


Fig. 1.

## 3. 研究の方法

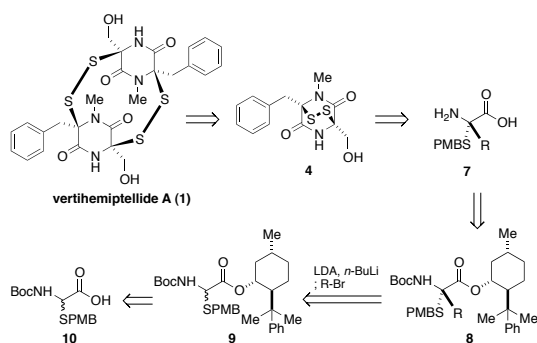
Vertihemiptellide A (**1**) の生合成経路は **1** を単離した Isaska らによって次のように説明されている。すなわち、**1** の有する二量体構造はエピジチオジケトピペラジン **4** を前駆体として構築されており、**4** がイミン **5** を経由して二量化することで **1** が生成されると考えられている (Scheme 1)。 **4** 自体は単離されていないものの **4** の前駆体として考えられるジケトピペラジン **3** や **4** を経由して生合成されたと考えられる **6** が単離されていることから **1** の生合成における中間体 **4** の存在が強く示唆される。



Scheme 1.

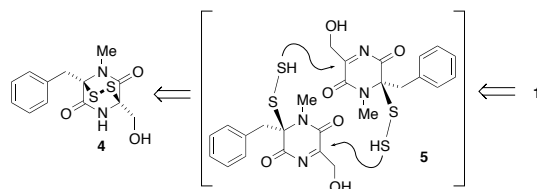
そこで、**1** の合成計画を立案する上で、Isaka らの仮説を踏まえ、**4** を鍵中間体として設定した。すなわち、**4** を用い生合成経路を模倣した二量化反応を行う事で **1** の二量体構造を効率良く構築できるものと考えた。**4** の合成には不斉アルキル化反応が鍵反応となると考えられる。そこでアミノ酸 **2** に対して不斉補助基を用いた不斉アルキル化反応を行うことで **10** を合成し、**4** へと導くこととした。不斉アルキル化反応は Berkowitz らの条件 (J. Org. Chem., 1995, 60, 1233-1238.) をアミノ酸 **10** に応用することとした。すなわち不斉補助基としてフェニルメンチル基を用い **9** を合成した後、LDA, *n*-BuLi を作用させることで生じるジアニオンに対しアルキル化剤を作用させることで **8** がジアステレオ選択的に得られる方法である。**8** からフェニルメンチル基を除去することで、**4** の構成ユニットである **7** を得る事が可能である (Scheme 2)。 **9** に対し種々のアルキル化剤を作用させることで **1** はもちろん、種々の類縁体の合成が可能であり、またフェニルメンチル基のエナンチオマーを

用い同条件下で反応を行う事で、**7** のエナンチオマーの合成も可能である。



Scheme 2.

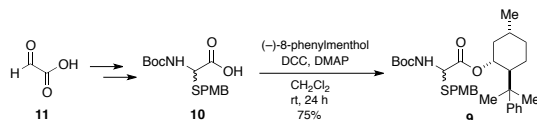
得られた **7** から数工程を経て **4** を合成し、二量化反応を検討する予定である。このような二つのジスルフィド結合で架橋された二量体構造の構築法に関してはこれまでに報告が無く、前例の無い新規二量化反応である。生合成経路を模倣し、種々の酸および塩基を用いた条件検討を行い、イミン **5** を反応系中に生成させることで二量体構造を構築し、**1** の全合成達成を目指す。酸塩基を用いたイオニックな二量化反応の条件検討と並行して、**4** に対するラジカル的な二量化反応も検討し効率的な方法論を構築することを目的とした (Scheme 3)。



Scheme 3.

#### 4. 研究成果

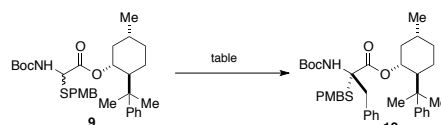
初めに、不斉アルキル化反応の基質となるフェニルメンチル基を有するアミノ酸 **9** の合成を行った。文献記載の方法 (*Org. Lett.*, **2006**, *8*, 2361-2364.) に従って、グリオキシル酸 (**11**) からスルフェニル基を有するアミノ酸 **10** を合成した。**10** に対し、DMAP 存在下、DCC を縮合剤としてフェニルメントールを作用させることで、望むエステル体 **9** を合成した (Scheme 4)。



Scheme 4.

このようにして合成した **9** に対し、当初の計画通り Berkowitz らの条件を用い、不斉

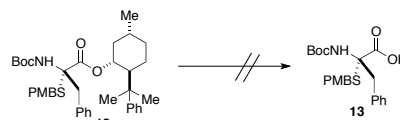
アルキル化反応について検討を行った。THF-HMPA 混液中、 $-78^{\circ}\text{C}$  にて LDA, *n*-BuLi を順次作用させた後、アルキル化剤として臭化ベンジルを作用させたところ、所望のアルキル化体 **12** を低収率ながらも単一の立体異性体として得ることに成功した (Table 1, entry 1)。次いで、塩基として KHMDS を用いたが基質の分解が進行するのみで、**12** を得るとはできなかった (entry 2)。そこで、塩基および臭化ベンジルの等量について検討した結果、収率を 62% にまで改善することができた (entries 3, 4)。



| entry | conditions   | yield (%) |          |
|-------|--|-----------|----------|
|       |  | <b>12</b> | <b>9</b> |
| 1     | BnBr (1.1 eq), LDA (1.3 eq), <i>n</i> -BuLi (2.5 eq), THF-10% HMPA, $-78^{\circ}\text{C}$ , 15 h | 17        | 20       |
| 2     | BnBr (1.1 eq), KHMDS (6 eq), THF-10% HMPA, $-78^{\circ}\text{C}$ , 15 h                          | -         | 50       |
| 3     | BnBr (1.1 eq), LDA (3 eq), <i>n</i> -BuLi (6 eq), THF-10% HMPA, $-78^{\circ}\text{C}$ , 6 h      | 31        | -        |
| 4     | BnBr (2.2 eq), LDA (3 eq), <i>n</i> -BuLi (6 eq), THF-10% HMPA, $-78^{\circ}\text{C}$ , 6 h      | 62        | -        |

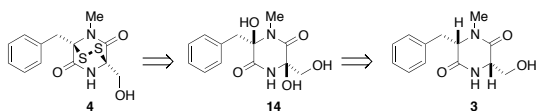
Table 1.

以上のようにジアステレオ選択的に **12** を得ることに成功したので、次いで **12** のフェニルメンチル基を除去することとした。しかしながら、**12** に対し、水酸化リチウムを作用させたところ、スルフェニル基の脱離を伴ってしまい、フェニルメンチル基を除去することができなかった。さらに、ナトリウムメトキシドや DIBAL 還元等を用い、種々検討を行ったがフェニルメンチル基を除去することはできなかった (Scheme 5)。



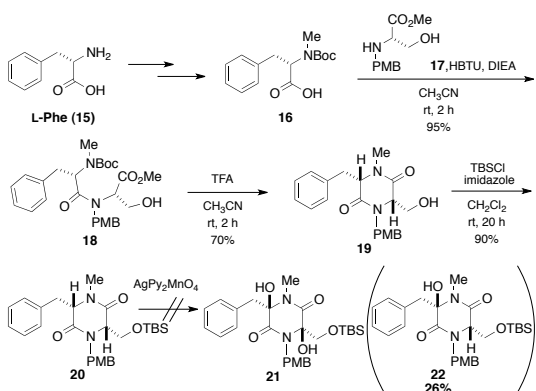
Scheme 5.

脱保護反応については現在も引き続き検討を行っているところであるが、スルフェニル基の脱離の容易さから考えて、当初の合成計画とは異なるアプローチが必要と考えた。従って、スルフェニル基を終盤に導入する方法で **4** を合成することとした。その際、ジケトピペラジンの二つの  $\alpha$  位に水酸基を有する化合物 **14** を合成し、水酸基を足掛かりとして、アシルイミニウムイオンを生成させることでスルフェニル基を導入することが可能であると考えた (Scheme 6)。なお、本合成法ではチール基導入の際にラセミ化することが想定されたが、**4** を合成し、二量化反応の検討を行うことが優先と考えた。



Scheme 6.

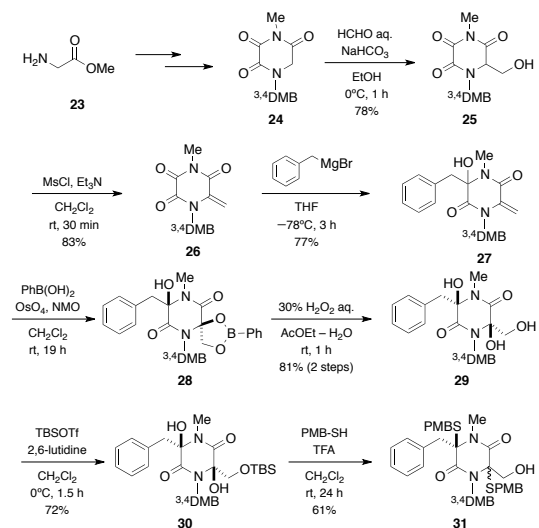
L-フェニルアラニン (**15**) のアミノ基を Boc 基およびメチル基で保護し、**16** を合成した。次いで、**16** と L-セリン誘導体 **17** を HBTU を縮合剤として用いることで縮合させ、ジペプチド **18** を合成した。得られたジペプチド体 **18** に TFA を作用させ、Boc 基の脱保護反応を試みたところ、脱保護反応と同時に閉環反応が進行し、ジケトピペラジン **19** を得ることに成功した。**19** の 1 級水酸基を TBS 基で保護した後、ジケトピペラジン  $\alpha$  位への水酸基導入反応について検討を行った。酸化剤として  $\text{AgPy}_2\text{MnO}_4$  を作用させたところ、Phe の  $\alpha$  位に水酸基が導入された化合物 **22** を得ることができた。しかしながら、反応時間の延長および等量について検討を行ったものの、Ser 残基の  $\alpha$  位にも水酸基が導入された化合物 **21** を得ることはできず、基質の分解が進行するのみであった (Scheme 7)。



Scheme 7.

そこで、ジケトピペラジンの合成法を見直すこととし、グリシンメチルエステル **23** から導かれるトリカルボニル体 **24** を出発物質として用いることとした。**24** に対し、エタノール中、炭酸水素ナトリウム存在下、ホルムアルデヒドを作用させることで、ヒドロキシメチル体 **25** を合成した。次いで、生じた水酸基に対し、メシルクロライドを作用させたところ、メシル化と同時にメシルオキシ基の脱離反応が進行し、エキソメチレンを有するトリカルボニル体 **26** を得ることができた。さらに、得られた **26** に対し、THF 中、 $-78^\circ\text{C}$  でベンジルマグネシウムブロミドを作用させたところ、位置選択的に付加反応が進行し、付加体 **27** を収率 77% で得ることができた。**27** に対し、フェニルホウ酸存在

下、四酸化オスミウムを作用させホウ酸エステル **28** とした後、過酸化水素水で処理することで、2 つの  $\alpha$  位に水酸基を有するジケトピペラジン **29** を合成することに成功した。**29** の 1 級水酸基のみを TBS 基で保護した後、チオール基の導入反応について検討を行った。その結果、 $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  中、TFA 存在下、硫黄源として PMB-SH を作用させることで、水酸基とチオール基の置換反応が進行し、ジケトピペラジンの  $\alpha$  位にスルフェニル基を有する化合物 **31** を得ることに成功した (Scheme 8)。



Scheme 8

現在、**31** から Vertihemiptellide A (**1**) の全合成を目指し、検討を開始したところである。

## 5. 研究組織

### (1) 研究代表者

成田 紘一 (NARITA KOICHI)

東北薬科大学・薬学部・助手

研究者番号：20584460