

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 6 月 14 日現在

機関番号：24402

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2013～2016

課題番号：25282233

研究課題名(和文) デヒドロアミノ酸の幾何異性制御に基づく新規アミノ酸・ペプチドの創製

研究課題名(英文) Stereoselective synthesis of mono- and di-substituted dehydroamino acids and its application to the natural product synthesis and chemical biology.

研究代表者

品田 哲郎 (SHINADA, Tetsuro)

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：30271513

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,200,000円

研究成果の概要(和文)：デヒドロアミノ酸(Dhaa)は、アミノ酸側鎖が不飽和化された非天然型アミノ酸である。構造がアミノ酸に近似していることや、アミノ酸側鎖がオレフィン平面上に固定された特性から、ペプチドの配座固定や生物活性の向上のための研究ツールとして期待が集まっている。本研究ではDhaa合成において残された課題となっている1置換および2置換体の立体制御にかかる課題の解決に取り組んだ。その結果(あ)独自に開発したホスホノ酢酸エステル試薬を用いたE-Dhaaの立体選択的合成、(い)ジ置換Dhaaの立体選択的合成、(う)ホモプシン Aに含まれるDhaaが連続した側鎖の合成を達成した。

研究成果の概要(英文)：Dehydroamino acid (Dhaa) is a useful tool in the research area of amino acid and peptide chemistry. In this study, we examined the stereoselective synthesis of monosubstituted E-Dhaas and disubstituted Dhaas in which the stereocontrolled syntheses have not been well established yet. We designed a new (diphenylphosphono)glycine to solve the synthetic problems. Various E-Dhaas were prepared with high stereoselectivities using the designed reagent and reaction conditions (additives and bases). The stereoselective synthesis of disubstituted Dhaas were achieved by using the new reagent, (diphenylphosphono)glycine, as a common synthetic precursor. Dehydroisoleucine was prepared by a series of sequential reactions: i) E-selective olefination, ii) Z-selective iodination, and ii) Negishi cross-coupling reaction. The above new method is successfully applied to the stereoselective synthesis of phomopsin A side chain containing dehydroisoleucine and dehydroaspartic acid.

研究分野：天然物化学

キーワード：デヒドロアミノ酸 立体選択的合成 天然物合成

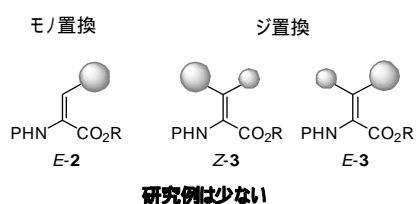
1. 研究開始当初の背景

デヒドロアミノ酸 (Dhaa) は、アミノ酸側鎖が不飽和化された non-proteogenic なアミノ酸である。構造がアミノ酸に近似していることや、アミノ酸の側鎖がオレフィン平面上に固定された特性から、ペプチドの立体配座固定、酵素分解耐性の向上、生物活性の向上のための研究ツールとして広く利用されてきた。また、天然由来の生物活性ペプチド中に、その存在がしばしば確認されていることから多くの合成法が開発されている。

Dhaa は β 位の置換基の数によって、デヒドロアラニン(1)、置換基を 1 つ有するモノ置換体 2、置換基を 2 つ有するジ置換体 3 に分類される。2 および 3 には、それぞれオレフィン部位の幾何異性が異なる *E*-体と *Z*-体が存在する。既存の Dhaa 合成の多くは置換基を持たない 1 と熱力学的に安定な *Z*-2 に集中している。研究に着手した時点において、残る *E*-2 とジ置換体 *E*-3 および *Z*-3 については優れた合成法の開発が求められている状況にあった。また、合成法の欠如は Dhaa を利用した研究展開にも大きな影響を及ぼしている。実際に、*E*-2、ジ置換体 *E*-3 および *Z*-3 を用いたペプチド科学研究や天然物合成研究は大幅に遅れていた。



立体選択的合成法が確立されている
ペプチド科学研究例は膨大



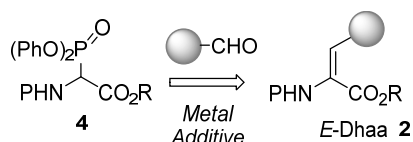
2. 研究の目的

本研究では Dhaa 合成において残された課題を解決し、ペプチド科学研究における潜在的有用性を開拓することを目的として (1) 独自に開発した試薬 4 を用いた *E*-Dhaa 2 の合成法の開発、(2) ジ置換 Dhaa 3 合成法の確立、(3) Dhaa を含有する天然物、ホモプシン A の側鎖合成を検討した。

3. 研究の方法

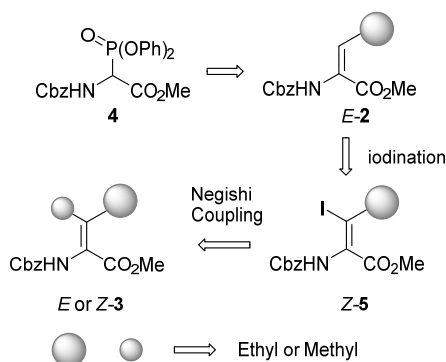
(1) *E*-Dhaa 2 の立体選択的合成
試薬 4 とさまざまなアルデヒドとを反応さ

せ、Dhaa の *E/Z* 選択性を調べる。選択性は核磁気共鳴スペクトルを用い、ビニルプロトンのケミカルシフト値の違いにより確認する。*E*-選択性が低い場合は、塩基の種類や無機塩添加剤を調査することで選択性を改善する。



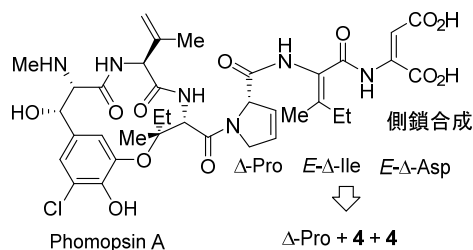
(2) ジ置換 Dhaa の立体選択的合成

ジ置換 Dhaa 合成のモデルとしてデヒドロイソロイシン (Δ -Ile) を選び、その合成を検討する。上記(1)で得られた *E*-Dhaa 2 のヨウ素化と根岸カップリング反応による炭素鎖導入を行う。



(3) ホモプシン A に含まれるトリペプチド鎖合成

(1) および (2) で確立したジ置換 Dhaa 合成法を適用するとことで、ホモプシン A の側鎖 Dhaa 部位の合成を行う。 Δ -プロリン (Δ -Pro) と試薬 4 を縮合した後、 Δ -Ile 部位を構築する。再度試薬 4 を縮合した後、 Δ -アスパラギン酸 (Δ -Asp) 部位を構築する。

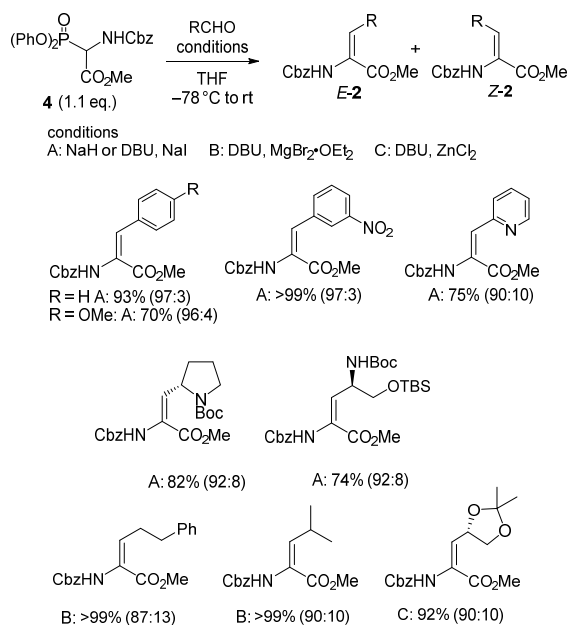


4. 研究成果

(1) *E*-Dhaa 2 の立体選択的合成

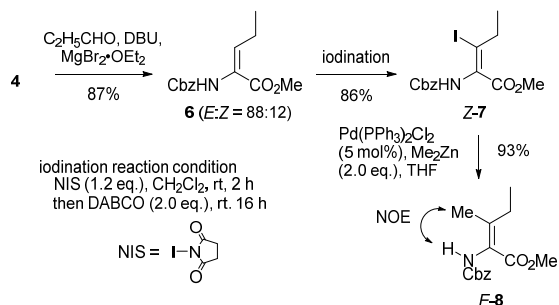
試薬 4 とアルデヒドとの縮合を試みたところ芳香族アルデヒド類は塩基として NaH または DBU、添加剤として NaI を用いると望む *E*-2 を立体選択的に与えた (条件 A)。これに対して、アルキル側鎖を有するアルデヒド類は、収率良くオレフィンを与える一方で *E*-選択性は満足のものではなかった。そのため、反応条件を精査し

た．無機塩の効果について調査したところ $\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ (条件 B) および ZnCl_2 (条件 C) に選択性を向上する効果があることを見出した．以上のように，反応条件 A~C を適宜選択することによってアルキル基，芳香環，酸素官能基を有するさまざまなアルデヒドを *E*-Dhaa へと立体選択的に変換する方法を確立できた．



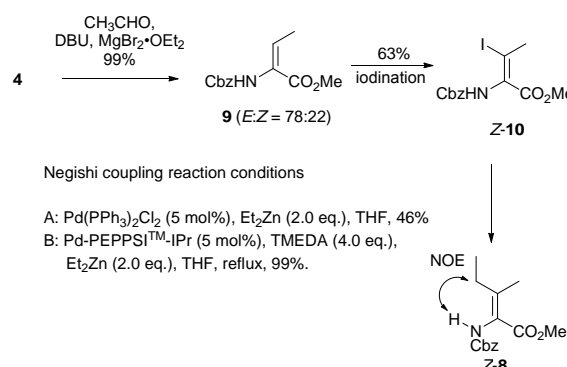
(2) ジ置換 Dhaa の立体選択的合成

ジ置換 Dhaa の立体制御法の確立に向けて *E*- Δ -Ile **8** の合成に取り組んだ．DBU と $\text{MgBr}_2 \cdot \text{OEt}_2$ の存在下，試薬 **4** とプロパナールの縮合を行うと *E*-**6** [*E*:*Z* = 88:12] を 87% の収率で与えた．*E*-**6** を NIS および DABCO で処理すると，熱力学的に安定な *Z*-ヨウ化物 **7** が単一の異性体として 86% の収率で得られた．*Z*-**7** は 5 mol% の $\text{Pd}(\text{PPh}_3)_2\text{Cl}_2$ の存在下， Me_2Zn との Negishi クロスカップリング反応により，室温の条件下 *E*-**8** を高収率かつ単一の生成物として与えた．*E*-**8** の立体化学は NOESY スペクトル解析によって確認した．



次に *Z*- Δ -Ile **8** の作り分けを試みた．試薬 **4** およびアセトアルデヒドの *E*-選択的オレフィン化は，*E*-**9** [*E*:*Z* = 78:22, 99% 収率]

を収率 63% で与えた．*E*- Δ -Ile **8** の合成で用いたヨウ素化反応を適用したところヨウ素体 *Z*-**10** が 63% の収率で得られた．続く Et_2Zn とのクロスカップリングを *E*-**8** の合成の際に用いた条件 A にて行ったところ，その収率は中程度 (46%) にとどまった．その理由として，本触媒反応条件において Et-Pd 中間体から β -ヒドリド脱離が競合することで触媒が失活したことが推定された．そこで，配位飽和とする配位子を用いる条件を検討したところ，TMEDA を配位子に， Pd 触媒として $\text{Pd-PEPPSI}^{\text{TM}}\text{-IPr}$ を用いた結果，*Z*- Δ -Ile **8** が 99% の高収率で合成できた．生成物の立体化学は NOESY スペクトルによって決定した．



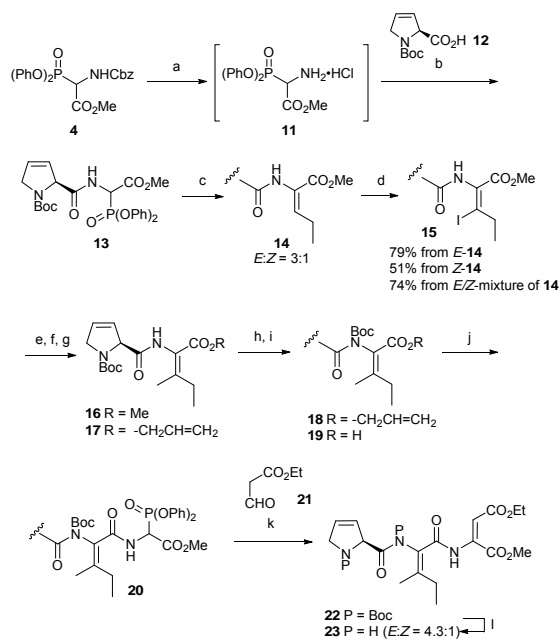
以上のように，温和な反応条件下でジ置換 Dhaa を立体選択的に合成する方法が確立できた．

(3) ホモプシンのトリペプチド鎖の合成

(1) および (2) の結果を踏まえ，ホモプシン A のトリペプチド側鎖合成に取り組んだ．水素化反応条件下，**4** の Cbz 基を除去することでアンモニウム塩 **11** が得られた．**11** は単離することなく **12** と連結し，**13** へと導いた．**13** とプロパナールとのオレフィン化反応は *E*-**14** と *Z*-**14** を 3:1 混合物として与えた．*E*-体と *Z*-体をそれぞれ分離した後，NIS と DABCO によるヨウ素化を試みた結果，ヨウ化物 **Z-15** を *E*-**14** から 79% で *Z*-**14** から 51% で得た．これより *E*-**14** を基質とすることが収率の向上につながることを実証できた．

次にクロスカップリング反応を試みた 3 mol% の $\text{Pd-PEPPSI}^{\text{TM}}\text{-IPr}$ の存在下で **15** を Me_2Zn と作用させたところ収率 94% で **16** を与えた．次のペプチド化に先立ちメチルエステル **16** を 2 工程収率 86% でアリルエステル **17** に変換した．**17** の N-H 基を Boc 化後，アリル基を除去して適切に保護されたカップリング前駆体 **19** を得た．**19** と **11** のペプチド結合形成反応は，オレフィンの異性化を伴うことなく進行し 56% で **20** を与えた．末端の Δ -Asp は (1) で確立した反応条件を適用することで選択的に構築でき

た。まず、反応条件 C を用いてホスホネート **20** を **21** と縮合させ *E*-**22** へと導いた。TFA を用いて **22** の Boc 基を除去し、*E*-**23** と *Z*-**23** の混合物を分取 TLC で精製することで *E*-**23** を得た。Δ-Asp 部分の幾何異性は、オレフィンプロトン (*E*: 6.05 ppm, *Z*: 5.46 ppm) の化学シフト値の比較によって確認できた。これにより、ホモプシン A のデヒドロアミノ酸側鎖の選択的合成に成功した。



Reagent and conditions: a) H₂, Pd/C, HCl in MeOH, EtOAc; b) **12**, EDCl, DMAP, CH₂Cl₂/DMF, 55% over 2 steps; c) propanal, DBU, MgBr₂·OEt₂, THF, 91% (*E*:*Z* = 74:26); d) NIS, CHCl₃, 50 °C then DABCO, rt, 74% (*Z* only); e) Pd-PEPPSITM-IPr, Me₂Zn, THF, 94%. f) LiOH, THF/H₂O, 50 °C; g) allyl bromide, Cs₂CO₃, DMF, 86% over 2 steps; h) Boc₂O, DMAP, CH₂Cl₂, quant.; i) Pd(PPh₃)₄, morpholine, THF; j) **11**, EDCl, DMAP, CH₂Cl₂/DMF, 56% over 2 steps; k) **21**, DBU, ZnCl₂, THF, 80%, l) TFA, CH₂Cl₂ then Preparative TLC, 35%.

以上のように、Dhaa 合成に残された課題をほぼ解決するとともに、天然物合成研究も大きく前進した。世界初となるホモプシン A の全合成を達成すべく研究を継続している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 11 件)

Y. Yasuno, M. Hamada, M. Kawasaki, K. Shimamoto, Y. Shigeri, T. Akizawa, M. Konishi, Y. Ohfuné, T. Shinada, (7*S*)-Kaitocephalin as a potent NMDA receptor selective ligand, *Org. Biomol. Chem.* (査読有) **2016**, *14*, 1206-1210.

DOI: 10.1039/C5OB02301G.

Y. Yasuno, Y. Yoshida, A. Nishimura, Y. Ohfuné, T. Shinada, A facile synthesis of (2*R*/*S*,5*R*)-1-*tert*-butyl-2-methyl-5-(((*tert*-bu-

tylsilyl)oxy)methyl)pyrrolidine-2-carboxylic acid ester, *Heterocycles* (査読有) **2016**, *91*, 2377-2385.

DOI: 10.3987/COM-15-13347

Y. Yasuno, A. Nishimura, Y. Yasukawa, Y. Karita, Y. Ohfuné, T. Shinada, The stereoselective construction of *E*- and *Z*-Δ-Ile from *E*-dehydroamino acid ester: the synthesis of the phomopsin A tripeptide side chain, *Chem. Commun.* (査読有) **2016**, 52, 1478-1481.

DOI: 10.1055/C5CC08458J

A. Manabe, R. Matsumoto, T. Shinada, Cyclopropanation of (*E*)-dehydro aspartic acid esters with furan derivatives: the synthesis of highly functionalized α-2,3-methano- amino acid esters, *Synlett* (査読有) **2015**, 26, 1710-1714.

DOI: 10.1055/s-0034-1380812

E. Nishimura, Y. Ohfuné, T. Shinada, Total synthesis of a monomeric phloroglucinol derivative isolated from *Myrtus Communis*, *Chem. Lett.* (査読有) **2015**, *44*, 445-447.

DOI: 10.1246/cl.141168

M. Ueda, N. Doi, H. Miyagawa, S. Sugita, N. Takeda, T. Shinada, O. Miyata, Reaction of cyclopropenes with a trichloromethyl radical: unprecedented ring-opening reaction of cyclopropanes with migration, *Chem. Commun.* (査読有) **2015**, *51*, 4204-4207.

DOI: 10.1039/C4CC09649E

E. Nishimura, Y. Ohfuné, T. Shinada, Total synthesis and structure elucidation of (±)-triumphalone & (±)-isotriumphalone, *Tetrahedron Lett.* (査読有) **2015**, *56*, 539-541.

DOI: 10.1016/j.tetlet.2014.12.005

K. Oe, Y. Ohfuné, T. Shinada, Short total synthesis of (-)-kainic acid, *Org. Lett.* (査読有) **2014**, *16*, 2550-2553.

DOI: 10.1021/ol5009526

A. Manabe, Y. Ohfuné, T. Shinada, Toward the total synthesis of tetrodotoxin: stereoselective construction of the 7-oxanorbornane intermediate, *Tetrahedron Lett.* (査読有) **2014**, *55*, 6077-6080.

DOI: 10.1016/j.tetlet.2014.09.036

K. Maeda, Y. Kiniwa, Y. Ohfuné, S. Ishiguro, K. Suzuki, K. Murata, H. Matsuda, T. Shinada, Solid phase synthesis of α-amino squaric acid-containing peptides, *RSC Adv.* (査読有) **2014**, *4*, 50639-50643.

DOI: 10.1039/C4RA10442K

Y. Yasuno, M. Hamada, T. Yamada, T. Shinada, Y. Ohfuné, Stereoselective synthesis of *E*-α,β-dehydroamino acid esters, *Eur. J. Org. Chem.* (査読有) **2013**, 1884-1888.

DOI: 10.1002/ejoc.200500434

〔学会発表〕(計 15 件)

Y. Karita, Y. Yasuno, T. Shinada, Synthetic Study of Phomopsin A, 日本化学会第 97 回春季年会, 平成 29 年 3 月 16-19 日, 慶應義塾大学 (神奈川県横浜市)

A. Sawai, A. Sekihara, Y. Yasuno, T. Shinada, Synthetic Study of SF-2132, 日本化学会第 97 回春季年会, 平成 29 年 3 月 16-19 日, 慶應義塾大学 (神奈川県横浜市)

I. Mizutani, Y. Yasuno, T. Shinada, Catalytic Asymmetric Synthesis of Diamino Dicarboxylic Acids, 日本化学会第 97 回春季年会, 平成 29 年 3 月 16-19 日, 慶應義塾大学 (神奈川県横浜市)

品田哲郎, 生命現象の解明に貢献する有機合成化学: オレフィンの立体制御を切り口として, 日本化学会中国四国支部岡山地区講演会—有機化学者による生命科学へのアプローチ, 平成 28 年 12 月 10 日, 岡山大学理学部 (岡山県岡山市)

保野陽子, 濱田まこと, 吉田侑矢, 川崎昌紀, 島本啓子, 茂里康, 秋澤俊史, 小西元美, 大船泰史, 品田哲郎, カイトセファリンの構造活性相関によるサブタイプ選択的イオンチャンネル型グルタミン酸受容体リガンドの開発, 第 58 回天然有機化合物討論会, 平成 28 年 9 月 14-16 日, 東北大学 (宮城県仙台市)

Y. Yoshida, Y. Yasuno, Y. Ohfuné, T. Shinada, Synthesis of Fluorescent-Labelled Kaitocephalin, 日本化学会第 96 回春季年会, 平成 28 年 3 月 24-27 日, 同志社大学 (京都府京都田辺市)

A. Nishimura, Y. Yasuno, T. Shinada, Total Synthesis of Cirratiomycin A and B, 日本化学会第 96 回春季年会, 平成 28 年 3 月 24-27 日, 同志社大学 (京都府京都田辺市)

品田哲郎, デヒドロアミノ酸の立体制御と天然物全合成への展開, 有機合成 2 月セミナー, 有機合成のニュートレンド, 平成 28 年 2 月 3 日, 大阪科学技術センター (大阪府大阪市)

T. Shinada, Synthesis of Fluorescent Ligand for Visualization of Native Ionotropic Glutamate Receptors, The 2015 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies, Dec. 15-20, 2015, Honolulu, Hawaii (USA)

保野陽子, 品田哲郎, カイトセファリンの蛍光プローブ化に向けた構造活性相関研究, 新学術領域研究「天然物ケミカルバイオロジー分子標的と活性制御」第 7 回若手研究者ワークショップ, 平成 27 年 6 月 9 日, 東北大学青葉サイエンスホール (宮城県仙台市)

A. Manabe, S. Ueda, T. Shinada, Synthetic Study of Tetrodotoxin, The 13th International Kyoto Conference on New

Aspects of Organic Chemistry (IKCOC-13), Nov. 9-13, 2015, Rihga Royal Hotel, Kyoto, (Japan)

品田哲郎, 高親和性イオンチャンネル型グルタミン酸受容体リガンドの創製に向けた天然物ケミカルバイオロジー, 新学術領域研究「天然物ケミカルバイオロジー—分子標的と活性制御—」第 6 回公開シンポジウム, 平成 26 年 5 月 28 日, 名古屋大学 (愛知県名古屋市)

T. Shinada, K. Shimamoto, Y. Ohfuné, Synthesis of Kainoid Analogs Their Affinities to Glutamate Receptors, The 2nd International Symposium on Chemical Biology of Natural Products: Target ID Regulation of Bioactivity, Oct. 28-29, 2013, Pacifico Yokohama, Yokohama, Kanagawa, (Japan)

御前公美, 大船泰史, 品田哲郎, アクロメリン酸 A の全合成研究, 平成 25 年 10/17~19 日, 第 43 回複素環化学討論会, 長良川国際会館 (岐阜県岐阜市)

T. Shinada, Total Synthesis of Natural Products Exhibiting Glutamate Receptor Binding Activities, The 15th Asian Chemical Congress (ACC), (15th ACC 2013), Aug. 19-23, 2013, Resorts World Sentosa (Singapore)

〔その他〕

ホームページ

大阪市立大学理学研究科物質分子系専攻分子変換学研究室 HP

<http://www.sci.osaka-cu.ac.jp/chem/henkan/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

品田 哲郎 (SHINADA, Tetsuro)

大阪市立大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号: 30271513