

平成 31 年 3 月 14 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K01796

研究課題名(和文) 抗菌活性を示すピペラジン酸含有環状ペプチド類の全合成と構造活性相関研究

研究課題名(英文) Synthetic study of antibiotic cyclopeptides toward elucidation of structure-activity relationships

研究代表者

吉田 将人 (Yoshida, Masahito)

東北大学・薬学研究科・助教

研究者番号：80511906

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、強力な抗菌活性を示すピペラジン酸含有環状ペプチド類について、構造活性相関の解明を指向した全合成を検討した。独自に開発したSc(OTf)₃を触媒として用いたピペラジン酸誘導体のアシル化反応により調製したピペラジン酸のジペプチドに対し、順次酸クロリドを用いてペプチド鎖を伸長することで、所望の4連続ピペラジン酸構造の構築に成功した。続いて、両末端に対応するアミノ酸を縮合することで6残基ペプチドへと誘導後、脱保護を経て環化前駆体とした。高希釈条件下でのマクロラクトン化により目的の環状構造の形成を行うことができ、最後に全ての保護基を除去することで、ピペリダマイシンF提唱構造の合成を達成した。

研究成果の概要(英文)：In this research, total synthesis of potent antibiotic cyclodepsipeptide piperidamycins was investigated. Originally developed Sc(OTf)₃-catalyzed acylation of gamma-hydroxypiperazic acid derivative with piperazic chloride afforded the corresponding dipeptide, which was sequentially coupled with piperazic chlorides to provide desired tetrapiperazic acid derivative. After elongation to the hexapeptide by condensation with corresponding amino acids, removal of the protecting groups at N- and C-terminus afforded the cyclization precursor. Finally, macrolactonization using MNBA/DMAPO under high dilution conditions, followed by global deprotection of the protecting groups furnished plausible structure of piperidamycin F.

研究分野：生物分子化学，有機合成化学

キーワード：環状ペプチド 抗菌活性 全合成 構造活性相関

1. 研究開始当初の背景

近年の創薬研究では小分子化合物からの新規医薬品開発の確率が下がりにつつあり、その打開策として新規シード化合物創出に向けた新たなケミカルスペースの獲得が急務である。その、興味深い生物活性を示し、構造多様性に富んだ天然物を利用した創薬研究が再び重要視されている[Tiwari, V. K. et al. *Eur. J. Med. Chem.*, **2011**, 46, 4769; Waldmann, H. et al. *Curr. Drug Targets*, **2012**, 12, 1531.]。特に、現在までに用いられている天然物由来の医薬品は、創薬研究の指標として利用されている‘Lipinski’s Rule of five (Ro5)’にはあてはまらない中分子クラスの分子量(分子量 500 ~ 3000)を有する化合物が多く含まれており、中分子化合物群が‘Beyond rule of five (Ro5)’という創薬研究の新たなケミカルスペースとして期待されている[Doak, B. C. et al. *J. Med. Chem.* **2016**, 59, 2312]。その中でも大員環構造を有する化合物群、特に環状ペプチドを基盤とした創薬研究が近年関心を集めている[Giordanetto, F. et al. *J. Med. Chem.* **2014**, 57, 278]。シクロスポリンなどの環状ペプチド類は鎖状ペプチドとは異なり、環状構造をとることによる代謝安定性の向上や、分子量が 1000 を超える中分子クラスのペプチド化合物でも膜透過性を有する等、創薬研究において必要とされる物性を示すことが知られている。このような理由から、特異な性質を有する中分子環状ペプチド類が新薬開発の一端を担うことのできる新たな化合物群といえる[Bhat, A. et al. *Eur. J. Med. Chem.*, **2015**, 94, 471]。本研究では、結核など再興感染症を標的とした新奇抗菌活性環状ペプチド類の全合成と活性発現機構の解明を目標に、創薬研究への応用を指向した強力な抗菌活性を示すピペリダマイシン類を始めとするピペラジン酸含有環状ペプチドの全合成と誘導体合成を検討する。近年では耐性菌の出現により、従来の抗生物質とは異なる構造および作用機序を示す化合物の創出が強く求められている。本申請課題に挙げるピペラジン酸含有環状ペプチド類は強力な抗菌活性を示すため医薬品開発への応用が期待されるが、構造の複雑さから合成難易度が高く、その全合成の報告例は世界的にも少なく、その結果創薬研究に繋がる構造活性相関研究を指向した誘導体合成はほとんど行われていない。こ

のことからも本研究を強力に推進することで、これまでの抗生物質開発において未踏のケミカルスペースを開拓することができ、結核など再興感染症克服に向けた新規抗生物質探索の加速化が期待されるだけでなく、中分子環状ペプチドを利用した創薬研究の基盤研究として有用な知見を得ることができる。

2. 研究の目的

興味深い抗菌活性を示すピペラジン酸含有環状ペプチド類について、構造活性相関研究を可能とする合成法の開発を主軸に研究を進める。具体的には、特異な 4 連続ピペラジン酸構造を有する環状デプシペプチド(ピペリダマイシン類)について、多様性指向型合成を指向した全合成を検討し、ピペリダマイシン類の誘導体合成法の確立を試みる。

3. 研究の方法

これまでにピペリダマイシン類の開環構造を有し、その前駆体と考えられる鎖状 6 残基ペプチド JBIR-39 について全合成を達成し、絶対配置の決定に成功している[Yoshida, M. et al. *Chem. Eur. J.* **2015**, 21, 3031]。その際、触媒量の Sc(OTf)₃ を用いることで γ -ヒドロキシピペラジン酸誘導体のアシル化反応が促進することを見いだしており、所望のアシル化体を高収率で得ることに成功している。本研究では、本手法を利用した効率的なピペラジン酸含有ペプチド鎖の伸長と、マクロラクトン化による環状構造の形成を達成することにより、ピペラジン酸含有環状ペプチド類の合成を試みる。まずはじめに、ピペラジン環上に置換基を持たない 8-デオキシピペリダマイシン F の合成を通して環化反応の条件を検討し、確立した条件を用いてピペリダマイシン F (1) をはじめとする天然物の合成へ応用することにした(図 1)。

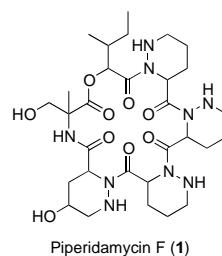
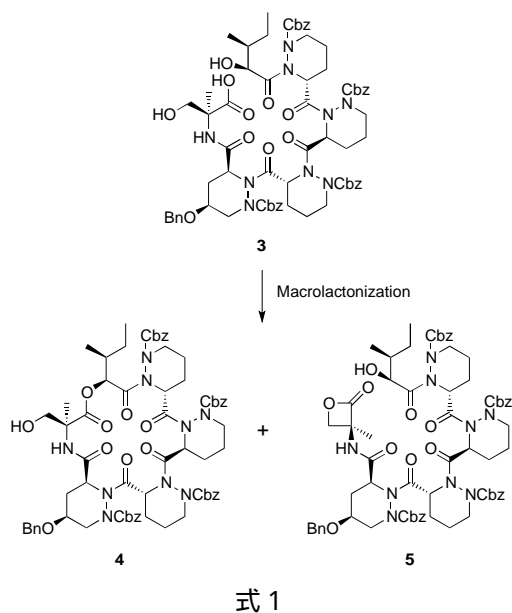


図 1

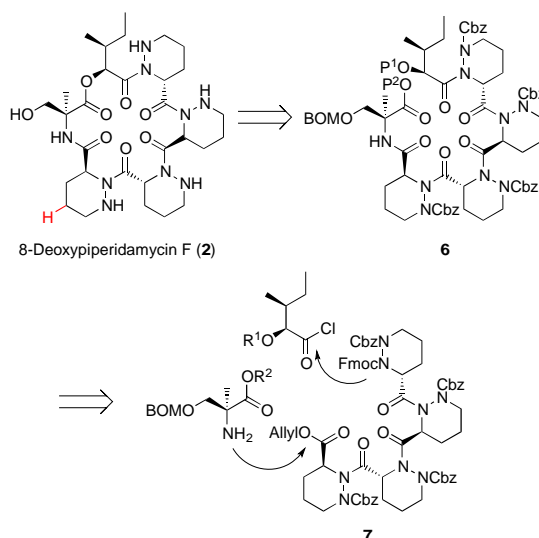
4. 研究成果

(1) 8-デオキシピペリダマイシン F の合成研究

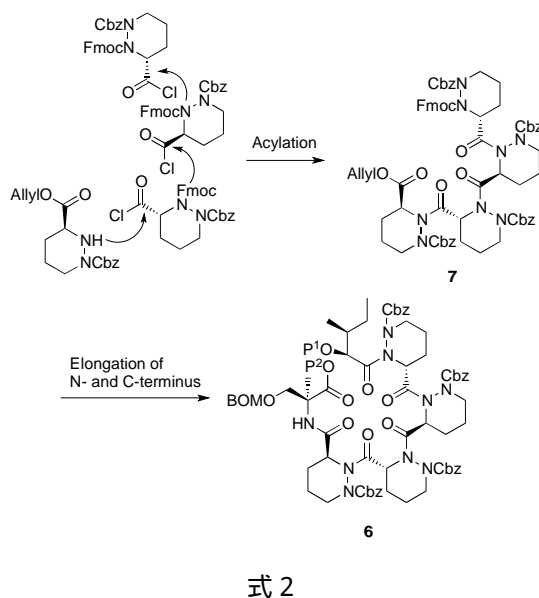
はじめに、環状構造形成について反応条件の確立を目的とした 8-デオキシピペリダマイシン F (2) の合成について検討することにした。これまでのピペリダマイシン F の合成研究から、 α -メチルセリンの一級水酸基を保護せずにマクロラクトン化を行った場合、所望のマクロラクトン 4 の他、 β -ラクトン 5 の生成が観測されている。これらはほぼ同じ極性であるため、分離が困難であった。このことから、マクロラクトン化を行うことで収率良く所望の環状構造を得るためには、 α -メチルセリンの一級水酸基について保護が必須である (式 1)。



そこで、最終工程において Cbz 基と同時に除去可能なベンジルオキシメチル (BOM) 基を α -メチルセリンの一級水酸基の保護基に用いて合成を行うことを計画し、はじめに環化条件の確立に向けて構造を簡略化した 8-デオキシ体 2 の合成を検討することにした。まず、酸クロリドを用いたピペラジン酸誘導体のアシル化を順次行うことで 4 連続ピペラジン酸 7 を構築後、N-および C-末端をそれぞれ対応するアミノ酸で伸長することにより 6 残基ペプチド 6 へ誘導、両末端の脱保護と環化によりマクロラクトンとした後、全ての保護基を除去することで目的の 8-デオキシ体 2 得ることにした (図 1)。

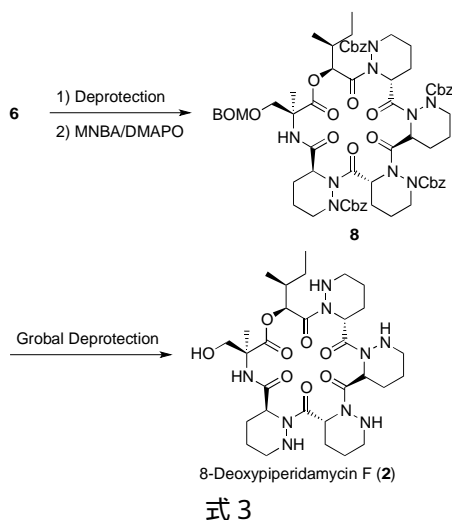


過去に報告した JBIR-39 の合成を参考に、ピペラジン酸誘導体に対して酸クロリドを用いたアシル化と Fmoc 基の除去を繰り返すことにより、4 連続ピペラジン酸 7 を合成した。続いて、得られた 7 の N 末端に対して α -ヒドロキシカルボン酸誘導体を導入後、C 末端に一級水酸基が BOM 基で保護された α -メチルセリン誘導体を縮合することで 6 残基ペプチド 6 を得た (式 2)。



続いて、マクロラクトン化による環化体の構築を試みた。すなわち、6 の両末端の保護基を除去した後、椎名らによって報告されている 2-メチル-5-ニトロ安息香酸無水物 (MNBA) と 4-ジメチルアミノピリジン N-オ

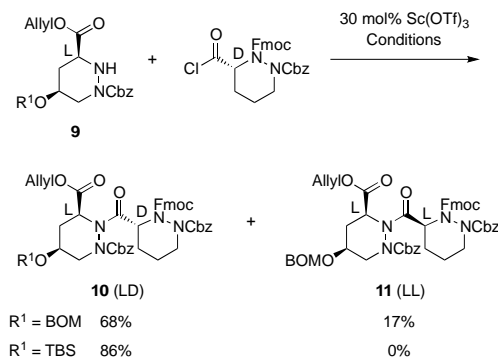
キシド(DMAPO)を用いたマクロラクトン化と試みたところ、二量体を形成せずに対応する環化体 **8** を与えることが分かった。この結果より、環化点近傍に保護基を導入してもマクロラクトン化が進行したことから、環化しやすい配座を取っていることが示唆される。得られた環化体 **8** を加水素分解条件に付した結果、所望の 8-デオキシ体 **2** を合成できることが分かり、環状構造の形成から脱保護までの合成経路を確立した(式3)。



(2) ピペリダマイシン F の合成研究

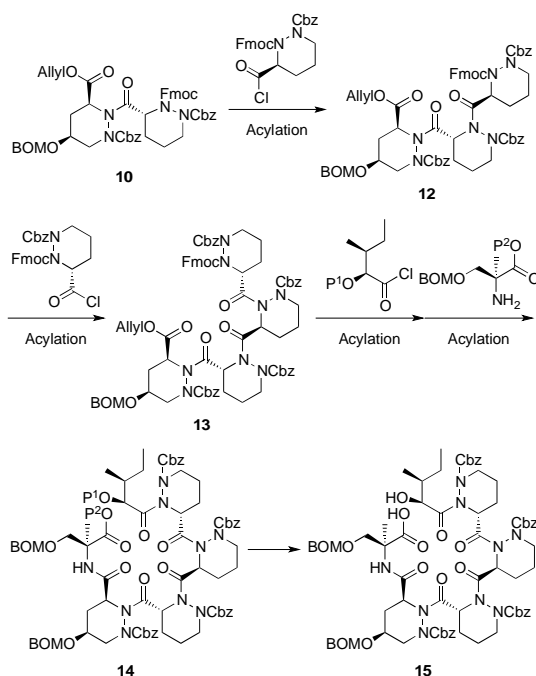
先の検討により、 α -メチルセリンの一級水酸基を保護することで環化反応を行うことができ、またその脱保護が可能であることが分かったので、次にピペリダマイシン F (**1**) の合成を検討した。その際、 γ -ヒドロキシピペラジン酸に存在する二級水酸基の保護基には、加水素分解により除去可能な BOM 基を用いることにした。はじめに、BOM 基で保護された γ -ヒドロキシピペラジン酸誘導体 **9** の D 体のピペラジン酸クロリドを用いたアシル化を検討した。触媒量の $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 存在下、反応温度を 0 度に設定してアシル化を行った結果、所望のジペプチド **10** を収率 68% で得ることができたが、予想に反し、アシル化時にエピ化したと思われる **11** が生成した。このエピ化は、反応温度や添加剤など条件を変えても進行した。一方、二級水酸基の保護基に TBS 基を用いた場合にはエピ体が生成しないことから、保護基によってエピ化が進行するという興味深い知見を得た。現在のところ、このエピ化を抑制することができていないが、シリカゲルカラムクロマトグラフィーに

て分離可能であり、得られる所望の立体化学を有する **10** を用いて、環化前駆体の合成を行うことにした(式4)。



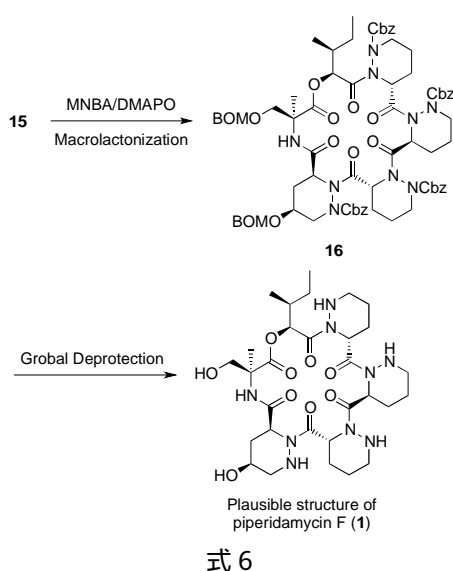
式 4

触媒量の $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 存在下、L 体の酸クロリドを用いたアシル化により 3 残基目を導入し、対応するトリペプチド **12** を得た。この際、エピ体が観測されなかったことから、先に示したエピ化は特異な条件で起こることが示唆された。続いて、Fmoc 基を除去後、同様の条件を用いて D 体のピペラジン酸を縮合することで、望む **13** へと導いた。次に、両末端に対して、それぞれ α -ヒドロキシカルボン酸および α -メチルセリン誘導体を縮合することで 6 残基ペプチド **14** とし、両末端の脱保護により環化前駆体 **15** を得た(式5)。



式 5

環化前駆体 **15** を得ることができたので、マクロラクトン化と続く脱保護によりピペリダマイシン F (**1**)の全合成を行うことにした。8-デオキシ体 **2** の合成を参考に、高希釈条件下で MNBA/DMAPO を作用させることによりマクロラクトン化が進行し、所望のマクロラクトン **16** を中程度の収率で得ることに成功した。最後に、Cbz 基および BOM 基を加水分解により除去することで、ピペリダマイシン F (**1**)を得ることができた。現在、単離精製を行っており、スペクトルデータを天然物と比較することで絶対配置の決定を行いたいと考えている(式6)。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計0件)

〔学会発表〕(計9件)

- (1) Masahito Yoshida, Yusuke Takahashi, Naoki Sekioka, Kazuo Shin-ya, and Takayuki Doi, Synthetic Study for Antibiotic Cyclodepsipeptide Piperidamycins, 日本化学会第98春季年会, 2018年3月, 千葉(口頭発表)
- (2) 吉田将人, 生物活性天然環状ペプチドの全合成を基盤とした構造活性相関研究から分子プローブ創製へ, Asian Chemical Probe Research Hub Symposium:天然物有機化学・天然物合成とケミカルバイオロジー, 2018年2月, 仙台(招待講演)
- (3) 吉田将人, 高橋優輔, 関岡直樹, 新家一

男, 土井隆行, 新規抗菌活性天然物 Piperidamycin F の全合成研究, 第56回日本薬学会東北支部大会 2017年10月, 青森(口頭発表)

- (4) Masahito Yoshida, Total Synthesis and Biological Evaluation of biologically Active Cyclodepsipeptides, 21th Korean Peptide Protein Society Symposium, 2017年6月, Jeju, Korea (Invited lecture)
- (5) 吉田将人, 機能解明に向けた生物活性環状ペプチド類の全合成を基盤とする構造活性相関研究, 日本薬学会第137回年会シンポジウム「有機合成化学の若い力」, 2017年3月, 仙台(招待講演)
- (6) 吉田将人, 高橋優輔, 関岡直樹, 新家一男, 土井隆行, Piperidamycin F 誘導体の合成研究, 日本薬学会第137回年会, 2017年3月, 仙台(ポスター発表)
- (7) Masahito Yoshida, Total Synthesis and Biological Evaluation of Naturally Occurring Middle-size Cyclodepsipeptides Toward Elucidation of the Mode of Action, 第53回日本ペプチド学会, 2016年10月, 京都(招待講演)
- (8) 吉田将人, 高橋優輔, 関岡直樹, 新家一男, 土井隆行, Synthetic Study for Piperidamycins, 平成28年度化学系学協会東北大会, 2016年9月, いわき(ポスター発表)
- (9) 吉田将人, 特異な生物活性を示す天然物の全合成と作用機構解明に向けた研究, 第3回慶應有機化学若手シンポジウム, 2015年5月, 横浜(招待講演)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pharm.tohoku.ac.jp/~hannou/index.html>

6. 研究組織

(1)研究代表者

吉田 将人 (YOSHIDA, MASAHITO)
 東北大学・大学院薬学研究科・助教
 研究者番号: 80511906