

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 25 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2013～2014

課題番号：25750381

研究課題名(和文)新規抗菌活性天然物ピペリダマイシン類の全合成と構造活性相関研究

研究課題名(英文)Synthetic Study for Piperidamycins

研究代表者

吉田 将人 (YOSHIDA, MASAHIITO)

東北大学・薬学研究科(研究院)・助教

研究者番号：80511906

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：特徴的なオリゴピペラジン酸構造を有する抗菌活性ピペリダマイシン類の全合成について検討した。ピペリダマイシン類の全合成に先立ち、その開環構造と考えられるJBIR-39の全合成を試みた。スカンジウムトリフラートを用いた触媒的アシル化反応を見いだすことで、構築困難なオリゴピペラジン酸構造の効率的な合成を達成し、JBIR-39の全合成の達成により不明であった立体化学を決定することに成功した。また、JBIR-39の合成から得た知見を基にピペリダマイシンFの全合成を検討し、低収率ながらマクロラクトン化反応を行うことに成功した。

研究成果の概要(英文)：Synthetic studies of piperidamycin F and JBIR-39 were investigated. Acylation of gamma-hydroxypiperazic acid with acid chloride was efficiently performed in the presence of Sc(OTf)₃ to afford the corresponding dipeptide in good yield. Synthesis of oligopiperazic acid structure, followed by removal of the protecting groups furnished the natural product JBIR-39. The structure of JBIR-39 was unequivocally determined, and its absolute configurations were established to be 2S, 6S, 8S, 11R, 16S, 21R, 26S, 27S. Based on the above results, synthesis of piperidamycin F was also investigated and preparation of its macrocyclic structure was carried out by macrolactonization using 2-methyl-6-nitrobenzoic anhydride (MNBA).

研究分野：生物分子科学

キーワード：全合成 デブシペプチド 抗菌活性 ピペラジン酸

1. 研究開始当初の背景

ピペリダマイシン類(1)は放線菌の遺伝子変異株から 2009 年に単離・構造決定された環状デプシペプチドであり、分子内にピペラジン酸誘導体が 4 つ連なった特異な構造を有する天然物である[Hosaka, T. et al. *Nature Biotech.* 2009, 27, 462]. ピペリダマイシン類(1)は A から H までの計 8 種類が確認されているが、現在までにその構造が明らかとなっているものは A, D および F の 3 種類である. 4 つ連なったピペラジン酸誘導体の N 末端側に α -ヒドロキシカルボン酸誘導体が、そして C 末端側にセリン誘導体が縮合し、その連続した 6 残基がエステル結合で環化した構造を有する. ピペリダマイシン類は抗菌活性を示し、構造が明らかとなっている A, D, F の 3 種類の中で現在までに D が強力な生物活性を示す. しかし、F については単離量が極微量であり、生物活性などその詳細が未だ明らかになっていないため、活性の強弱も含めピペリダマイシン類(1)の作用機序の解明に興味を持たれる.

2. 研究の目的

特異な構造を有し、かつ強力な抗菌活性を示すピペリダマイシン類(1)について、その構造決定を目的とした全合成を検討し、構造活性相関情報の取得を目的とした誘導体合成を展開可能な合成経路の確立を図る. 具体的には以下の 2 点について研究を進める.

- (1) ピペリダマイシン類(1)の開環構造を有する JBIR-39(2)の全合成を検討し、オリゴピペラジン酸構造の効率的な合成法を開発し、全合成により立体化学を含めた絶対構造を明らかにする.
- (2) JBIR-39(2)の全合成から得られる知見を基に、マクロラクトン化による大員環構築と保護基の除去により、ピペリダマイシン F(1f)の全合成を検討する.

3. 研究の方法

ピペリダマイシン類(1)は、連続する 4 つのピペラジン酸誘導体の配列が未決定であるため、現在まで完全な構造決定には至っていない[Hosaka, T. et al. *Nature Biotech.* 2009, 27, 462]. 申請者は 1 の誘導体合成やその構造活性相関を行うために、全合成を通じて誘導体合成が可能な合成経路を確立し、ピペリダマイシン類(1)の構造決定を行うことを計画した. しかし、1 に含まれる不斉点はアミノ酸の α 位だけでも 6 つ存在するため、最低でも $2^6=64$ 種類の化合物が必要となる. 一方、現在までに共同研究者によって、ピペリダマイシン類の開環構造を有する JBIR-39(2) が単離、構造決定されている

[Kozone, I. et al. *J. Marine Sci. Res. Development* 2011, 1, 101. doi:10.4172/2155-9910.1000101]. そこで、2 がピペリダマイシン類の前駆化合物であると仮定し、始めに JBIR-39 (2) の全合成を行うことで、1 の構造情報に関する知見が得られると考えた. しかし、ピペラジン酸の α -窒素は求核性が低いため、一般的な縮合剤によるアミド化反応は進行しにくいことが知られている. そこで、ピペラジン酸を酸ハライドへと変換した後、銀錯体を活性化剤として用いる縮合条件を利用することで効率的なオリゴピペラジン酸の合成を検討する. また、共同研究者らによる JBIR-39 (2) の単離の段階において、1)ピペラジン酸は D 体が 2 つ、L 体が 1 つ含まれている、2)ヒドロキシピペラジン酸の相対立体化学がシスであることが分かっている. この知見を基に、2 の構造決定に必要な化合物数を $3 \times 2 = 6$ 種類とした.

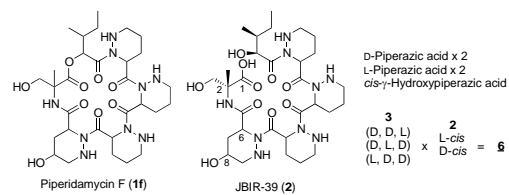


図 1.

また、現在までに単離されている C 末端に α -メチルアミノ酸をもつピペラジン酸含有環状デプシペプチド類は、エステル結合から C 末端側へ不斉点が時計回りに DL と交互に並び傾向がある. この予測を基に N 末端から α 位の立体配置が交互に並び 2a を優先的に合成し、天然物と比較することで JBIR-39 の絶対立体化学の決定を行うことにした.

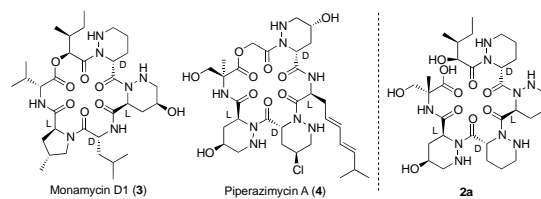


図 2

4. 研究成果

(1) オリゴピペラジン酸含有天然物 JBIR-39(2)の全合成

はじめにピペリダマイシン類の開環構造と考えられる JBIR-39(2)の全合成を検討した. その逆合成を以下に示す(図 3). 望む 4 はオリゴピペラジン酸 7 に対し、N 末端と C 末端に順次対応する 6 および 8 を縮合することで合成できると考えた. また、オリゴピペラジン酸 7 の合成は、従来用いられる縮合剤によるピペラジン酸の縮合反応が進行しにくいことを考慮し、反応性の高い酸クロリド 10 または ent-10 を用いたアシル化により行

うことにした。

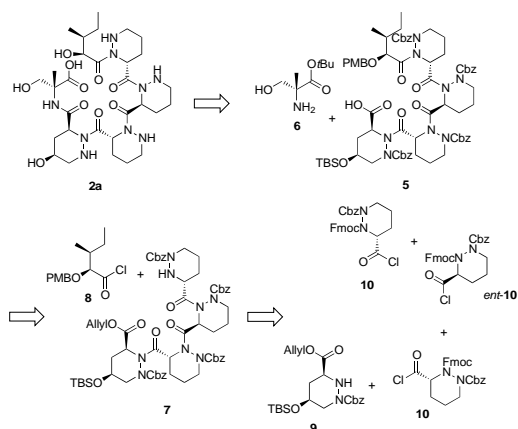
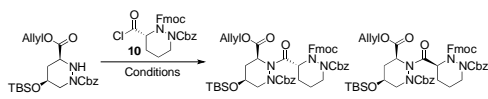


図 3

まず、始めに γ -ヒドロキシピペラジン酸 9 の酸クロリド 10 を用いたアシル化について検討した。従来法の重曹水や有機塩基を用いたアシル化では反応が完結せず低収率に留まったが(表 1, entry 1 および 2), 触媒量のシアン化銀を用いると収率が 69%まで改善することが分かった(entry 3). しかし, 反応系中でエピ化が進行し, 望む 11 とエピ化した 12 の混合物として得られることが分かった。そこで様々な活性化剤について検討したところ, 触媒量のスカンジウムトリフルオロメタンスルホナート(以下, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$)を用いた際, エピ化を抑えながら望む 11 を良好な収率で合成できることを見いだした(entry 4)。一方, その他のランタノイド系 Lewis 酸を用いた場合には顕著なエピ化が進行したことから(entries 5 and 6), この活性化は $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ 特異的なものであると考えられる。



Entry	Reagent	Solvent	Temp	Time	Yield	11:12 ^a
1	10% aq NaHCO_3	CH_2Cl_2	rt	24 h	23%	>99:1
2	2,6-lutidine	CH_2Cl_2	rt	13 h	30%	>99:1
3	AgCN (0.15 eq)	toluene	60 °C	2.5 h	69%	80:20
4	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (0.1 eq)	toluene	rt	1 h	86%	>98:2
5	$\text{Y}(\text{OTf})_3$ (0.1 eq)	toluene	rt	1 h	53%	73:27
6	$\text{La}(\text{OTf})_3$ (0.1 eq)	toluene	rt	1 h	60%	49:51

^aThe ratio was determined by HPLC with peak area at UV 214 nm

表 1

次に得られた 11 を用いて, 4 残基オリゴピペラジン酸 17 への誘導を試みた(図 4)。11 の Fmoc 基を除去後, 酸クロリド *ent*-10 を用いたアシル化を行ったところ, $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ を活性化剤として用いた場合に収率は中程度であったのに対し, 2,6-ルチジンを用いた場合には定量的に望む 16 が得られることが分かった。続いて, 同様に Fmoc 基の除去と酸クロリド 10 を用いたアシル化により, 対応するオリゴピペラジン酸 17 を良好な収率で得ることに成功した。

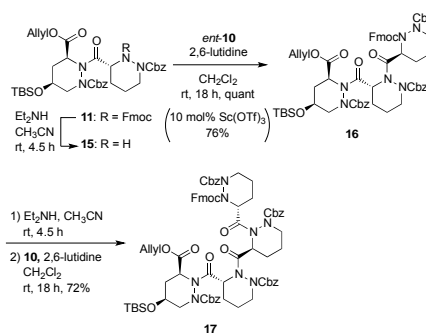


図 4

次に, 得られた 17 に対して順次 N 末端および C 末端の伸長を行うことにより, 6 残基ペプチドへと導くことにした(図 5)。17 の Fmoc 基を除去することで得られるアミン 7 に対し, シアン化銀存在下 8 を用いたアシル化を行うことで対応する 18 を収率 72%で得た。続いて, C 末端アリル基を除去することで 5 とした後に, α -メチルセリン誘導体との縮合を検討した。しかし, 望む 6 残基ペプチドを得ることはできず, ラクトン 19 が生成していることが分かった。これは反応条件下で TBS 基の脱離が起こり, 分子間でのアミド化よりも分子内反応が優先的に起こり, ラクトンが選択的に生成したものと予想した。

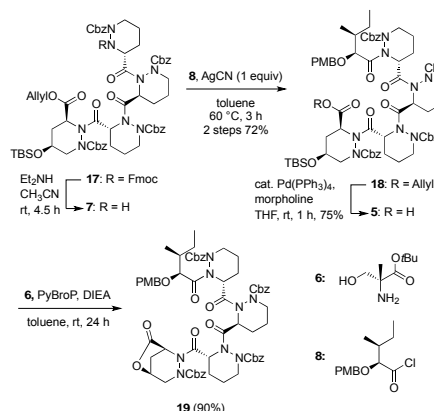


図 5

そこで TBS 基を他の保護基へ掛け替えることでこの問題を回避することにし, 保護基として穏和な条件下脱保護可能なクロロアセチル基を用いることにした。実際には, テトラアンモニウムフルオリド(以下, TBAF)を用いて TBS 基を除去した後, 生じた水酸基をクロロアセチル化することで対応する 20 とした。C 末端のアリル基の除去後, D 体の α -メチルセリン誘導体との縮合に $\text{DMI-OAt} \cdot \text{PF}_6$ (以下, AOI 試薬)を用いて行うことで目的とする 6 残基ペプチド 22 を中程度の収率で得ることができた(図 6)。

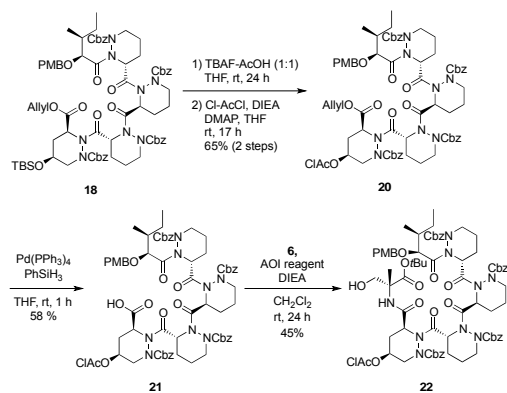


図 6

最後に全ての保護基を除去することで JBIR-39 へ導くことにした。すなわち、チオ尿素を作用させることでクロロアセチル基を除去した後に、酸性条件に付すことで N 末端および C 末端の脱保護、最後に接触水素化により全てのベンジルオキシカルボニル基（以下、Cbz 基）を除去することで脱保護体 2a を得たが、各種スペクトルデータが天然物と一致しないことが分かった。詳細な比較の結果、 α -メチルセリン付近の化学シフトが顕著に異なることが示唆された（図 7）。

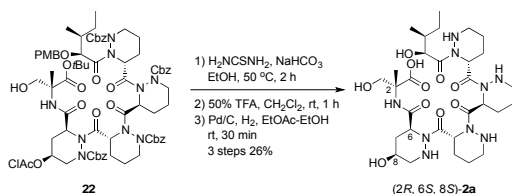


図 7

そこで、D 体の α -メチルセリン誘導体を縮合した誘導体 23 を合成し、全ての保護基を上記の方法で除去することで対応する 2b へと導いた。各種スペクトルデータを比較した結果、天然物と一致することが分かり、望む JBIR-39 の全合成に成功するとともに、未決定であった立体化学を 2S, 6S, 8S, 11R, 16S, 21R, 26S, 26S, 27S と決定した（図 8）。

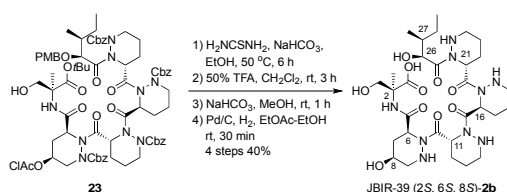


図 8

(2) ピペリダマイシン F の全合成研究

開環構造と推測される JBIR-39 の全合成を達成し、その立体化学を決定することができたので、次に合成中間体 23 を用いてマクロラクトン化による大員環構築を検討することにした（図 9）。酸性条件下で N 末端および C 末端の保護基を除去することで環化前駆体へ変換した後に、椎名らによって報告されて

いる 2-メチル-6-ニトロ安息香酸無水物（以下、MNBA）を用いてマクロラクトン化を試みた。しかし、原料は消失するものの、目的とする環化体 24 を得ることはできず、複雑な混合物が得られるのみであった。生成物を精査した結果、クロロアセチル基が脱離したと思われる化合物を観測したことから、本反応条件にクロロアセチル基が不適であることが示唆された。そこで他の保護基に変更して、再度マクロラクトン化を行うことを計画した。

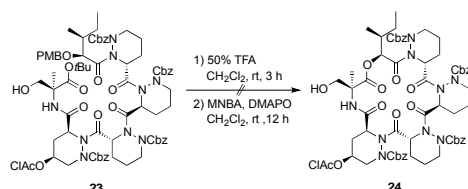


図 9

γ -ヒドロキシピペラジン酸の水酸基の保護基について考察した結果、最終段階で Cbz 基と同時に除去可能であり、マクロラクトン化条件に安定と考えられる Bn 基を用いることにした。実際に Bn 基で保護した環化前駆体 25 を調製し、MNBA を用いたマクロラクトン化を行ったところ、低収率ながら望むマクロラクトンを得ることに成功した（図 10）。現在、得られた化合物が 26 であるか構造決定を行っており、その後に保護基の除去を経て天然物へ導く予定である。

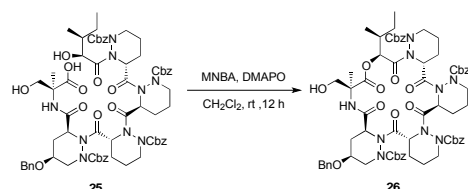


図 10

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

- (1) 吉田将人, 関岡直樹, 泉川美穂, 小曾根郁子, 高木基樹, 新家一男, 土井隆行, ピペラジン酸および γ -ヒドロキシピペラジン酸を含む鎖状ペプチド JBIR-39 の全合成と構造改訂, Chemistry European Journal, 21 巻, 2015 年, 3031-3041 (doi:10.1002/chem.201406020)(査読有)

〔学会発表〕(計 6 件)

- (1) 吉田将人, 特異な生理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 36 回東北薬学セミナー, 2014 年 12 月 6 日, 仙台 (招待講演)
- (2) 関岡直樹, 吉田将人, 高木基樹, 泉川美

穂，新家一男，土井隆行，オリゴピペラジン酸含有天然物 JBIR-39 の全合成と Piperidamycin F の全合成研究，第 56 回天然有機化合物討論会，2014 年 10 月 15 日，高知（口頭発表）

- (3) 関岡直樹，吉田将人，高木基樹，泉川美穂，新家一男，土井隆行，環状デブシペプチドピペリダマイシン F の合成研究，第 52 回日本薬学会東北支部大会，2013 年 10 月 20 日，仙台（口頭発表）
- (4) Naoki Sekioka, Masahito Yoshida, Miho Izumikawa, Motoki Takagi, Kazuo Shin-ya, Takayuki Doi, Synthetic Study for Cyclodepsipeptide Piperidamycins, International Symposium for the 70th Anniversary of the Tohoku Branch of the Chemical Society of Japan, 2013 年 9 月 29 日, Sendai (Poster presentation)
- (5) Naoki Sekioka, Masahito Yoshida, Motoki Takagi, Miho Izumikawa, Kazuo Shin-ya, Takayuki Doi, Synthetic Study for Oligo-piperazic Acid-containing Natural Product Piperidamycin F, Tohoku University 's Chemistry Summer School 2013, 2013 年 9 月 28 日, Sendai (Poster presentation)
- (6) Naoki Sekioka, Masahito Yoshida, Miho Izumikawa, Motoki Takagi, Kazuo Shin-ya, Takayuki Doi, Synthetic Study of Piperidamycins, ICCA-13 (13th International Conference on the Chemistry Antibiotics and Other Bioactive Compounds), 2013 年 9 月 25 日, Yamanashi (Poster presentation)

〔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 MASAHIITO)
東北大学・大学院薬学研究科・助教
研究者番号:80511906