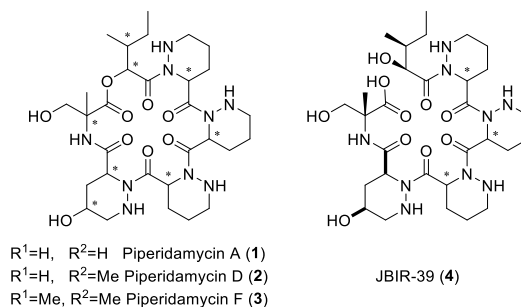


オリゴピペラジン酸含有天然物 JBIR-39 の全合成

および Piperidamycin F の合成研究

反応制御化学分野 B2YD1004 関岡 直樹

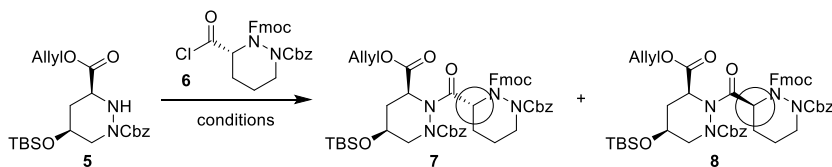
本論文では、近年問題となっている耐性菌に効果を示すペプチド系抗生物質の中でも、ニューキノロン系抗生物質と同程度の抗菌活性が期待でき、抗菌スペクトルも比較的広い piperidamycin 類(1-3)¹⁾に着目し、piperidamycin 類をリード化合物とした誘導體合成や構造活性相関研究に先立ち、天然物の立体配置の決定と合成法の確立を目的とした JBIR-39(4)の全合成および piperidamycin F(3)の合成研究について、研究成果を論述している。



第一章「序論」では、臨床で用いられる抗生物質について概観し、近年問題となっている抗生物質に対する多剤耐性について触れることで、多剤耐性を克服しうる新しい抗生物質の開発の重要性を述べている。近年では、多剤耐性菌に対して効果を示すペプチド系抗生物質コリスチンや、広域な抗菌スペクトルも示すディフェンシンをはじめとした抗菌ペプチドなどに注目が集まっており、ペプチドは抗生物質として様々な可能性を秘めている。その中でピペラジン酸を構造単位にもつ天然物が高い抗菌活性を有することを概説し、また現在までに報告されているピペラジン酸含有天然物の合成研究について述べることで合成上の問題点および改善点を示し、本論文の目的と意義を明らかにした。

第二章「JBIR-39 の全合成」では、piperidamycin F の絶対配置を予測するため、類似構造を有する JBIR-39 の立体配置決定を目的とした全合成の内容について論じている。4 は放線菌から単離され、現在までに報告例の無い 4 連続オリゴピペラジン酸構造を有する。その立体中心については、Marfey 法により α -メチルセリンは D、 α -ヒドロキシカルボン酸は L と決定されており、また、3 つのピペラジン酸については L 体が一つ、D 体が二つ含まれていることが明らかにされている²⁾。一方、 γ -ヒドロキシピペラジン酸の絶対配置は未決定であるが、2 次元 NMR 解析により環上の 2 つの置換基がシスの相対配置であることが示唆されている。また、放線菌から単離されたピペラジン酸含有環状ペプチドの構造情報を参考に、4 の構造を D と L が交互に並ぶ 4a と推定した。合成上の問題点として、ピペラジン酸誘導體は N2 位の反応性が低いことが挙げられ、4 連続オリゴピペラジン酸構造の構築に困難が予想される。そこで、鍵となる 4 連続オリゴピペラジン酸構造を優先して構築することにし、まず、 γ -ヒドロキシピペラジン酸 5 と酸クロリド 6 とのアシル化を検討した (Table 1)。一般的に用いられる塩基性条件ではほとんど反応が進行せず (Entry 1)、またシアン化銀を活

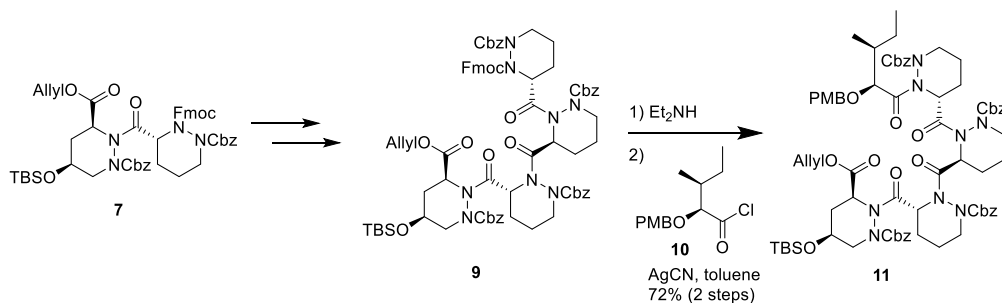
活性化剤として用いた場合には、反応は進行するものの α 位のエピメリ化が起こることが分かった(Entry 2)。一方、 $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ を酸クロリドの活性化剤として用いると α 位のエピメリ化を起こすことなく望む **7** を良好な収率で得られることが分かり(Entry 3)、ピペラジン酸含有ペプチドの新しい合成法を見出した。



Entry	Reagent	Solvent	Temp.	Time	Yield (7)	7:8
1	10% NaHCO_3 aq.	CH_2Cl_2	rt	24 h	23%	>99:1
2	AgCN (0.15 eq.)	toluene	60 °C	2.5 h	64 ~ 74%	80:20 ~ 95:5
3	$\text{Sc}(\text{OTf})_3$ (0.1 eq.)	toluene	rt	1.5 h	86%	>98:2

Table 1

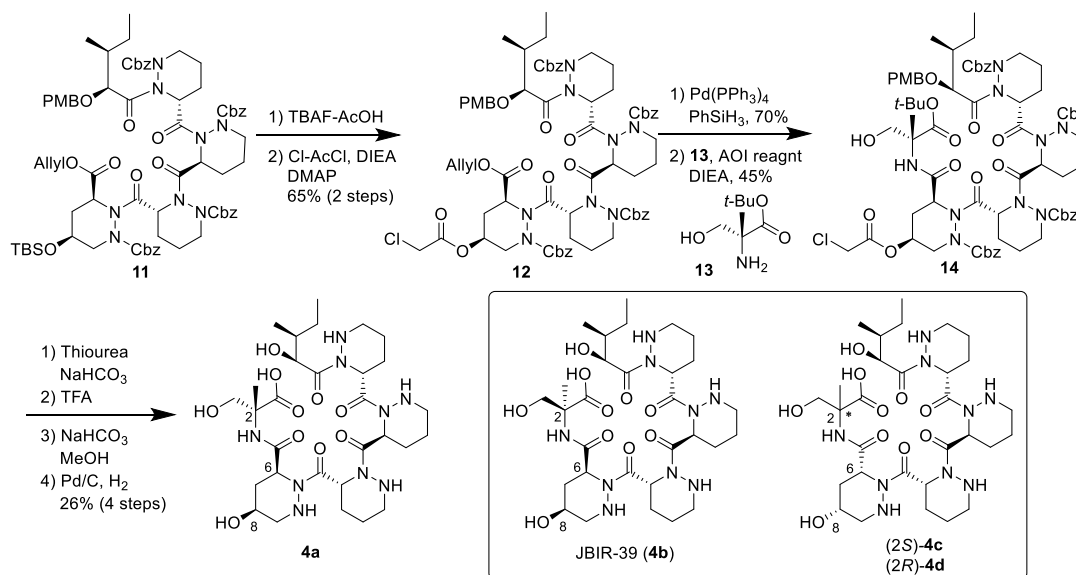
次に、得られたジペプチド**7**に対してFmoc基の脱保護と塩基性条件下での酸クロリドを用いたアシル化を繰り返すことで1残基ずつペプチド鎖を伸長し、現在まで報告例のない4連続オリゴピペラジン酸**9**の合成に成功した。また、得られた**9**に対し、シアン化銀を用いた**10**とのアシル化により5残基ペプチド**11**へと導くことができた(Scheme 1)。



Scheme 1

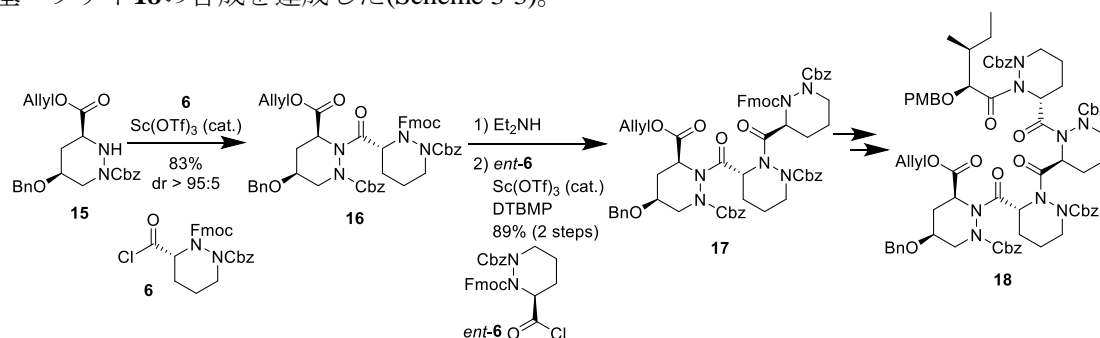
また、 γ -ヒドロキシピペラジン酸2級水酸基の保護基について、6残基への縮合反応条件下においてTBS基の脱離が問題であった。そこで、TBS基からクロロアセチル基に変えることでこの問題を解決できることが分かり、C末端側に α -メチルセリン誘導体**13**をAOI Reagentを用いて縮合することにより、望む6残基ペプチド**14**を得た。最後に、全ての保護基を除去することで望む**4a**を得ることができたが、天然物と各種スペクトルデータが一致しなかった。天然物と各種スペクトルデータの比較から、 γ -ヒドロキシピペラジン酸および α -メチルセリンの化学シフトが大きく異なっていることが分かり、この2つのアミノ酸について立体配置が天然物と異なることが示唆された。そこで、それらの組み合わせから考えられる3種類のジアステレオマー(**4b**, **4c**, **4d**)のいずれかが天然物と予想した。全てのジアステレオマー

を別途全合成した後、天然物の各種スペクトルデータと比較した結果、**4b**が天然物と一致したことからJBIR-39の全合成を達成するとともに、全ての立体配置を(2*S*, 6*S*, 8*S*, 11*R*, 16*S*, 21*R*, 26*S*, 27*S*)と決定した(Scheme 3-2)。



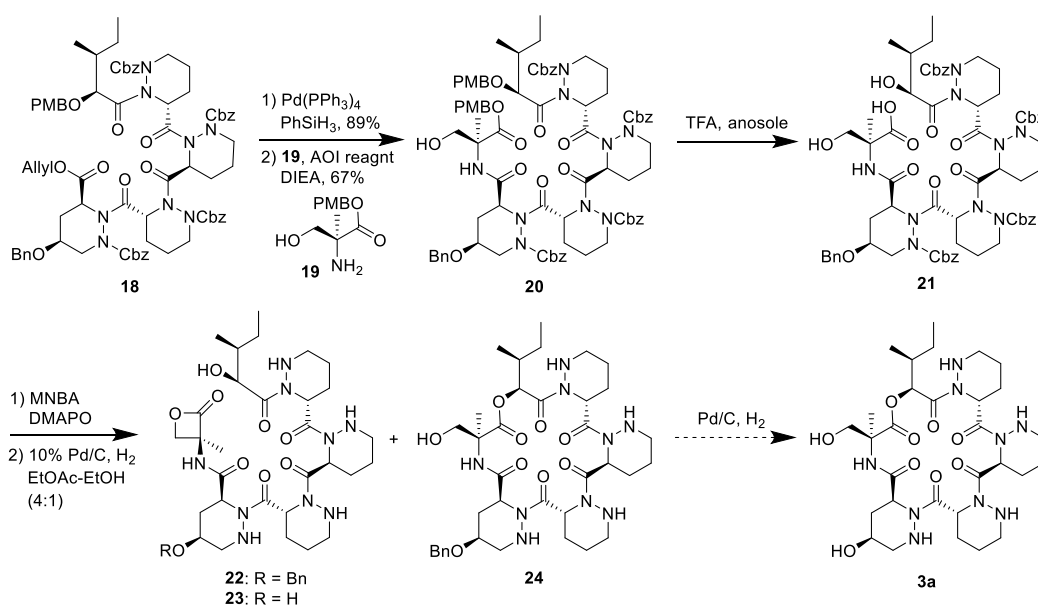
Scheme 3-2

第三章「Piperidamycin Fの合成研究」では、第二章において述べたJBIR-39の立体配置を基にpiperidamycin Fの立体配置を予測した推定構造**3a**の合成研究について論述している。JBIR-39の全合成で得た知見を基に、**Sc(OTf)₃**を酸クロリドの活性化剤として用いたピペラジン酸N2位のアシル化反応による4連続オリゴピペラジン酸構造の合成とマクロラクトン化を鍵とする18員環の構築について検討した。 γ -ヒドロキシピペラジン酸の2級水酸基をBn基で保護した**15**に対し、**Sc(OTf)₃**を用いた酸クロリドによるアシル化により2残基ペプチド**16**を良好な収率で得た後、同様のアシル化条件により5残基ペプチド**18**の合成を検討した。**Sc(OTf)₃**を活性化剤として用いた場合、反応系中で発生するHClがアミンと塩を形成することで反応が停止することが示唆された。そこで、塩基の添加を検討したところ、ジ-*tert*-ブチルメチルピリジン(DTBMP)を添加することでアシル化が良好に進行することを見出し、目的の5残基ペプチド**18**の合成を達成した(Scheme 3-3)。



Scheme 3-3

得られた**18**のC末端アシル基を除去した後に、 α -メチルセリン誘導体**19**を縮合することで6残基ペプチド**20**へ導き、両末端PMB基を酸性条件下除去することで環化前駆体**21**を得た。得られた環化前駆体**21**に対し、MNBA/DMAPOを用いたマクロラクトン化反応³⁾を行った後、接触水素化による保護基の除去を行った結果、Cbz基のみが脱保護されたマクロラクトン**24**を得ることができた。しかし、 β -ラクトン**22**と**23**も生成していることがわかり、マクロラクトン化条件において β -ラクトンの形成も同時に進行していることが分かった。今後、マクロラクトン化条件について精査するとともに、**24**のBn基を除去することでpiperidamycin Fの推定構造へ導き、天然物と各種スペクトルデータを比較することでpiperidamycin Fの立体配置を決定できると考えている(Scheme 3-4)。



Scheme 3-4

第四章「結論」では、本論文を総括している。

References

- Hosaka, T.; Kameyama, M.; Muramatsu, H.; Murakami, K.; Tsurumi, Y.; Kodani, S.; Yoshida, M.; Fujie, A.; Ochi, H. *Nat. Biotechnol.* **2009**, *27*, 462-464.
- Kozone, I.; Izumikawa, M.; Motohashi, K.; Nagai, A.; Yoshida, M.; Doi, T.; Takagi, M.; Shin-ya, K. *J. Marine Sci. Res. Development*, **2011**, doi:10.4172/2155-9910.1000101
- Yoshida, M.; Sekioka, N.; Izumikawa, M.; Kozone, I.; Takagi, M.; Shin-ya, K.; Doi, T. *Chem. Eur. J.* doi:10.1002/chem.201406020
- Shiina, I.; Hashizume, M.; Yamai, Y.; Oshiumi, H.; Shimazaki, T.; Takasuna, Y.; Ibuka, R. *Chem. Eur. J.* **2005**, *11*, 6601-6608.

論文提出者：関岡 直樹

論文審査委員 (主査)：土井 隆行

論文題目：オリゴピペラジン酸含有天然物 JBIR-39 の全合成および Piperidamycin F の合成研究

本論文は、近年問題となっている多剤耐性菌に効果を示すペプチド系抗生物質の中でも、ニューキノロン系抗生物質と同程度の抗菌活性が期待でき、抗菌スペクトルも比較的広い piperidamycin 類に着目し、天然物の立体配置の決定と合成法の確立を目的とした JBIR-39 の全合成および piperidamycin F の合成についての研究成果が述べられている。

第一章「序論」では、臨床で用いられる抗生物質について概観し、近年問題となっている抗生物質に対する多剤耐性菌の発現について触れ、多剤耐性を克服しうる新しい抗生物質の開発の重要性を述べている。また、多剤耐性菌に対して効果を示すペプチド系抗生物質 コリスチンや、広域な抗菌スペクトルも示すディフェンシンをはじめとする抗菌ペプチドなどペプチド性抗生物質の有用性を述べている。その中でピペラジン酸を構造単位にもつ天然物が高い抗菌活性を有することを概説し、現在までに報告されているピペラジン酸含有天然物の合成研究について述べることで合成上の問題点および必要とされる改善点を示し、本論文の目的と意義を明らかにしている。

第二章「JBIR-39 の全合成」では、piperidamycin F の立体配置を予測するため、その開環体と同一の平面構造を有する JBIR-39 の全合成と立体配置の決定について論じている。γ-ヒドロキシピペラジン酸のアミド化には相当する酸クロリドを $\text{Sc}(\text{OTf})_3$ により活性化する方法が有効であることを見出し、この方法を用いてピペラジン酸からなるテトラペプチドの合成に初めて成功している。続いて JBIR-39 の推定構造の全合成を達成したところ、天然物とは一致しなかったことから NMR スペクトルをもとに訂正構造を提唱している。さらに、その訂正構造について全合成に成功し、天然物と一致することを明らかにして、JBIR-39 のすべての立体配置を決定している。

第三章「Piperidamycin F の合成研究」では、第二章において述べた JBIR-39 の立体配置を基にそのマクロラクトン体を piperidamycin F の構造と推定して行った全合成研究について論述している。JBIR-39 に相当する環化前駆体について γ-ヒドロキシピペラジン酸の水酸基の保護基の選択が重要であることを明らかにし、そのマクロラクトン化を達成している。

第四章「結論」では、本論文を総括している。

以上要するに本論文はピペラジン酸含有オリゴペプチドの新たな合成法を開発し、JBIR-39 の全合成を達成するとともに、その手法が新規ペプチド系抗生物質の創製に有用であることを示した研究成果であり、薬学上貢献するところが大きい。

よって、本論文は博士 (薬科学) の学位論文として合格と認める。