

氏名	おお いし しん や 大 石 真 也
学位(専攻分野)	博 士 (薬 学)
学位記番号	薬 博 第 504 号
学位授与の日付	平 成 15 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	薬 学 研 究 科 創 薬 科 学 専 攻
学位論文題目	Synthesis of Highly Functionalized (<i>E</i>)-Alkene Dipeptide Isosteres and Application to Conformational Studies on Cyclic Peptides (高機能性 (<i>E</i>)-アルケン型ジペプチドイソスターの合成と環状ペプチドの 活性コンホメーション探索への応用研究)
論文調査委員	(主 査) 教 授 藤 井 信 孝 教 授 竹 本 佳 司 教 授 富 岡 清

論 文 内 容 の 要 旨

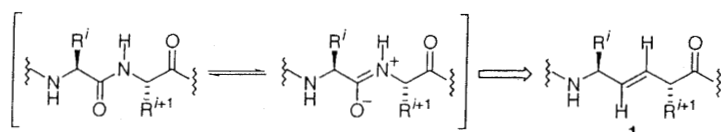
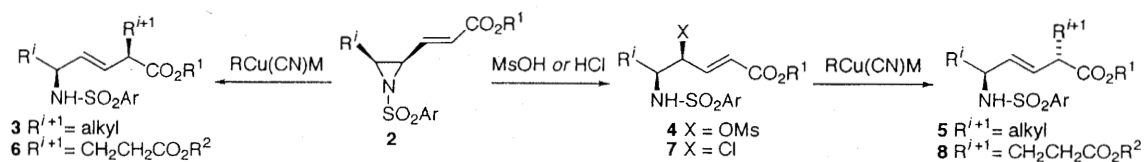


Figure 1

生理活性ペプチドの化学修飾は、機能部位や活性構造の同定のための最も有力な手法の1つであり、数多くの特殊アミノ酸・ペプチドミメティックが開発・応用されている。このうち、アルケン型ジペプチドイソスター **1** は、ペプチド結合の平面性を保持したまま、ペプチドの局所構造および全体構造を制御できるミメティックとして、構造-活性相関、構造-機能相関研究に幅広く利用されている (Figure 1)。しかしながら、天然型アミノ酸側鎖官能基の多様性に相当するイソスターの合成法、および、アルケン部位に多様な置換様式を有するイソスターの一般的な合成法は確立されておらず、実用的な応用に制限を与えていた。筆者は、これら高機能性アルケン型ジペプチドイソスターの合成法を開発し、環状ペプチドの構造活性相関研究に展開した。

第1章 アミノ酸を原料とする高機能性 (*E*)-アルケン型ジペプチドイソスターの合成第1節 官能基を有する L-アミノ酸-L-Glu・L-アミノ酸-D-Glu 型 (*E*)-アルケンジペプチドイソスターの立体選択的合成

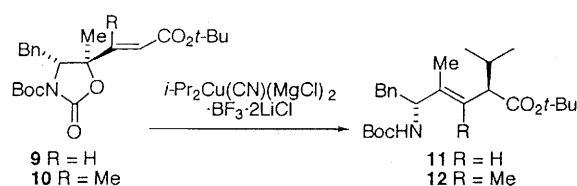
Scheme 1

筆者の所属する研究室では、アミノ酸を原料として得られるアジリジンの単一のアイソマー **2** からイソスターの2つのジアステレオマー **3**、**5** を立体選択的に合成する方法を確立していた (Scheme 1)。しかしながら、*i*+1 残基目の側鎖は官能基のないアルキル基に限定されており、また、(L, D)-型のイソスター **5** の合成中間体であるメシルオキシ体 **4** は単離が困難であることから、多様な天然型アミノ酸側鎖に対応するイソスターの簡便な合成のためには改良の余地を残していた。筆者は、その側鎖アルコキシカルボニル基の化学修飾により多様な側鎖官能基に変換可能である L-アミノ酸-L-Glu **6** および L-アミノ酸-D-Glu **8** 型イソスターの合成に着手した。

酸による開環反応において、メタンスルホン酸のかわりに塩化水素 (1,4-ジオキサン溶液) で処理することにより、単離可能な γ -クロロ- α 、 β -不飽和エステル **7** が定量的に得られることを見出した。また、Knochel らにより開発された有機亜鉛-銅複合試薬により、**2** および **7** のアルキル化反応が α 位特異的に進行し、それぞれ **6** および **8** が立体選択的に得ら

れることを明らかにした。

第2節 有機銅試薬によるキラルな1,3-オキサゾリジン-2-オン誘導体の開環反応を利用した二、三および四置換アルケン型ジペプチドイソスターの合成



Scheme 2

カルボニル酸素に相当する γ -メチル基を有するイソスターは、同じメチル基を有しないイソスターに比べてより適切な β ターン構造のモチーフであることが報告されている (Scheme 2)。筆者は、これらイソスターの汎用性の高い合成法に詳細な検討を加えた。

アミノ酸から誘導される β -オキサゾリジノニル- α , β -不飽和エステル **9**, **10**を鍵合成中間体とし、これに対する有機銅試薬によるアルキル化反応について精査した。その結果、 β 位のメチル基の有無により反応性が異なるものの、いずれも高次有機銅試薬により目的の *anti*-S_N2' 型のアルキル化反応が進行し、 $\psi[(E)\text{-CMe=CH}]$ -**11** および $\psi[(E)\text{-CMe=CMe}]$ -**12** 型のイソスターが優先的に得られることを明らかにした。

第2章 新規 $\psi[(E/Z)\text{-CH=CH}]$ -, $\psi(E)\text{-CMe=CH}]$ -および $\psi[(E)\text{-CMe=CMe}]$ -型ジペプチドイソスターの環状RGDペプチドの活性コンホメーション探索への応用

第1節 $\psi[(E)\text{-CH=CH}]$ -および $\psi[(E/Z)\text{-CH=CMe}]$ 型ジペプチドイソスターを含有する環状ペプチドの合成と生物活性の評価

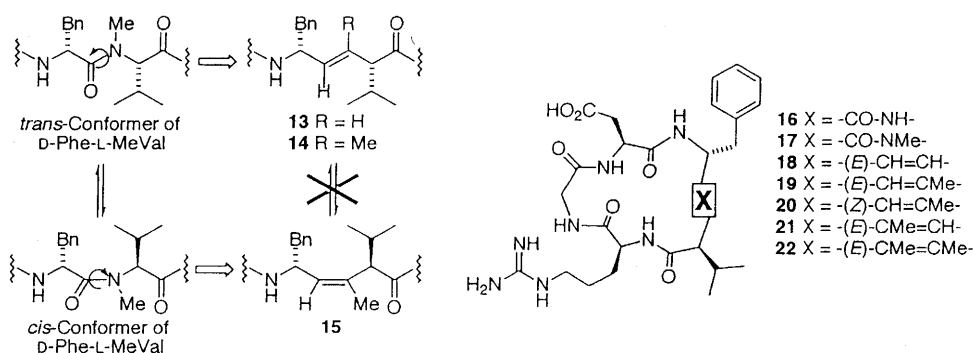


Figure 2

プロリンもしくは *N*-アルキルアミノ酸をC端側に有する *N*, *N*-ジアルキル型のペプチド結合では、通常のペプチド結合に比べてシス配置をとる割合が高いことが知られている。筆者は、従来型のイソスター D-Phe- $\psi[(E)\text{-CH=CH}]$ -Val **13**に加えて、 β -メチル基を有する新規イソスター、D-Phe- $\psi[(E)\text{-CH=CMe}]$ -Val **14**, および D-Phe- $\psi[(Z)\text{-CH=CMe}]$ -Val **15**を、Kesslerらにより見出された強力な $\alpha_v\beta_3$ インテグリン阻害活性を有する環状ペプチド cyclo(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-Val-) **16**および cyclo(-Arg-Gly-Asp-D-Phe-MeVal-) **17**のバリン残基の *N*-メチル基の有無による構造活性相関の検証に利用した (Figure 2)。

イソスター**13-15**を含むペプチド**18-20**をそれぞれ合成し、生物活性の評価を行った結果、活性コンホメーションにおいてペプチド結合はシス配置をとらず、また、*N*-メチル基の活性に及ぼす効果はその立体的な要因によるものではないことが示唆された。*N*-アルキルアミド基の構造や活性に及ぼす効果を明確に評価する新しいツールとして、イソスター**14, 15**が多様な *N*-アルキルアミノ酸を含むペプチドの構造活性相関研究に広く応用可能であることを明らかにした。

第2節 多置換アルケン型ジペプチドイソスターを利用した環状RGDペプチドの構造活性相関研究

ペプチド**16**の D-Phe-Val 部位は、II'型 β ターン構造の *i*+1-*i*+2 位に相当することが明らかにされている。筆者は、第1章第2節において合成法を確立した三置換および四置換アルケン型イソスター**11, 12**を環状RGDペプチドの構造活性

相関研究に応用した。

イソスターを含むペプチドは、通常の Fmoc 固相合成法を用いることにより容易に合成できることを明らかにした。続いて、得られたペプチド21および22の生物活性を評価するとともに、第2章第1節において得られたペプチド18, 19とともに、NMR および分子動力学計算による詳細な構造解析を行った。その結果、イソスターを含むペプチド18, 19, 21, 22はいずれも高活性誘導体17に類似した構造をとり、16に特徴的な $\Pi\beta/\gamma$ 構造には Val のアミドプロトンの存在が不可欠であることを見出した。様々な置換様式を有する一連のアルケン型イソスターをペプチドの構造解析に初めて活用した例として、これらがペプチド全体の構造に及ぼす部分構造の影響を客観的に評価するためのツールとして実践的に有用であることを示した。

筆者は、アミノ酸をキラルプールとした高機能性アルケン型ジペプチドイソスターの実用的合成法を確立した。また、それぞれのイソスターが簡便なペプチド固相合成法に適用可能であり、多様なペプチドの構造-活性相関・構造-機能相関研究に利用できることを明らかにした。本研究は、天然型リガンドからの効率的な非ペプチド性低分子医薬品の開発を指向したペプチド性リガンドの機能部位の同定や立体配座制御のための有用な基礎的知見を提供するものとする。

論文審査の結果の要旨

アミド結合をアルケンユニットに置換したペプチドイソスターは生理活性ペプチド・蛋白質の構造-活性(機能)相関研究に有用であり、ペプチドリード医薬品への応用も期待されている。一方、側鎖に天然型アミノ酸に対応する各種官能基を有するイソスターやアルケン部位に多様な置換様式を有する三置換型あるいは四置換型イソスター等の高機能性ペプチドイソスターの合成法はほとんど報告されておらず、generality の高い方法論の開発が切望されている。

申請者は二つの研究項目に焦点を当てて高機能性アルケン型ペプチドイソスターの合成法の開発とその応用研究を行った。

1) アミノ酸を原料とする高機能性 (E)-アルケン型ジペプチドイソスターの合成

α 位にアルキル側鎖を有する (E)-アルケン型ジペプチドイソスターの合成法としては有機銅試薬を用いた Ibuka らの立体選択的合成法をはじめとして、各種の方法が報告されているが、この位置への官能基の導入法については未解決であった。申請者は有機亜鉛銅複合試薬をもちいることで、この問題の解決をはかり、さらに β -アジリジノー α , β -不飽和エステルの HCl による立体特異的開環反応を精査することにより、側鎖に Glu 残基に対応する官能基を導入した (L, L) 型および (L, D) 型ジペプチドイソスターの立体選択的合成法を確立した。一方、多置換型アルケンイソスターの合成においては β -オキサリジノニル α , β -不飽和エステルを基質とする有機銅試薬の反応性を詳細に検討し、三置換、および四置換アルケン型ジペプチドイソスターの立体選択的合成法を確立した。

2) 新規三置換型および四置換型ジペプチドイソスターの環状 RGD ペプチドの活性コンフォメーション探索への応用

申請者は、上記の合成研究で得られた D-Phe-Val に対応する各種多置換型アルケンイソスターをプローブとして、Kessler らにより報告されている環状ペプチド性 $\alpha_1\beta_3$ -インテグリン拮抗剤の活性コンフォメーションに検討を加えた。その結果、数種の高活性誘導体を見いだすと同時に、Wipf ら、Gellman らにより提唱されている鎖状ペプチドモデルでの三置換、あるいは四置換アルケン型ジペプチドイソスターの β ターン誘起効果は少なくとも申請者が合成した環状ペプチドには認められないことを明らかにした。

本研究は α 位に側鎖官能基を有する (E)-アルケンジペプチドイソスターおよびアルケン部に多様な置換様式を有する多置換アルケン型ジペプチドイソスターの合成法として、アミノ酸をキラルプールとする普遍性の高い実用的な方法を提供するものであり、また各種生物活性ペプチドの活性発現機構を解析するためのプローブとしてこれらの高機能性アルケン型ジペプチドイソスターを活用するための有用な基礎的知見を提供するものである。

よって、本論文は博士(薬学)の論文として価値あるものと認める。

更に、平成15年2月20日論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果合格と認めた。