

京都大学	博士 (薬学)	氏名	井ノ口 恵利子
論文題目	Synthetic Studies on Peptide Bond Isosteres and Their Application to Biologically Active Peptides (ペプチド結合等価体の合成研究と生理活性ペプチドへの応用)		

(論文内容の要旨)

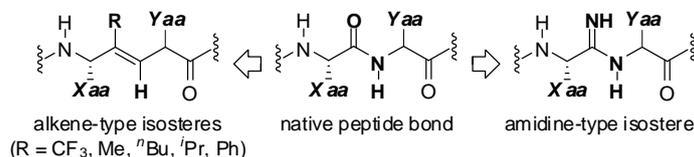
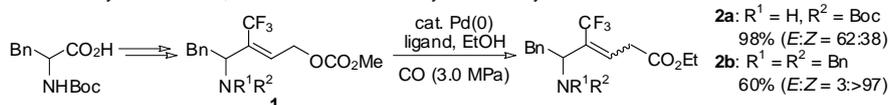


Figure 1. Structure of Peptide Bond and the Isosteres

生体内で容易に加水分解を受けるペプチド結合を非水解性結合に置換して、ペプチドの安定化ならびに生物活性の向上を目指す研究は、古くから製薬企業や大学において盛んに行われている。現在までに天然のペプチド性化合物よりも強力な薬理活性を示す種々の非天然型化合物が報告されているが、ペプチド結合のより正確な模倣と活性上昇を実現するイソスターの開発は今尚重要な研究課題である。著者は、ペプチド結合を静電的・立体的に模倣しうる数例のイソスターの新規合成法を開発し、生理活性ペプチドに応用することでそのバイオイソスターとしての能力を精査した (Figure 1)。

## 1. アミノ酸由来カルボナートに対するパラジウム触媒カルボニル化反応を用いたトリフルオロメチルアルケン型及び三置換アルケン型ジペプチドイソスターの合成

Scheme 1. Synthesis of CF<sub>3</sub>-ADIs via Palladium-catalyzed Carbonylation

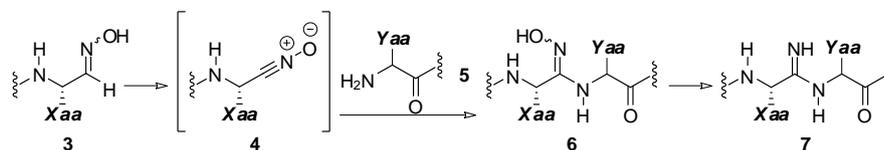
所属研究室で行われてきたペプチド結合等価体に関する研究の知見から、著者はペプチド結合と類似の双極子モーメントを有するトリフルオロメチルアルケン型イソスター (CF<sub>3</sub>-ADIs) が有効なイソスターとなりうると考え、その効率的合成法の開発に着手した。研究開始当初、数例のCF<sub>3</sub>-ADIsの合成法が報告されていたが、生成物のδ位の立体化学を制御できないため、Xaa-Gly型CF<sub>3</sub>-ADIsの立体選択的合成が困難であるという欠点を有していた。そこで著者は、キラル源として容易に入手可能なα-アミノ酸を出発原料として用いることでδ位の立体化学を制御することとした。L-フェニルアラニンより数工程で誘導したCF<sub>3</sub>アルケン含有アリルカルボナート **1** に対し、パラジウム触媒存在下一酸化炭素を作用させたところ、一炭素伸長した目的のエステル **2** を得ることに成功した (Scheme 1)。さらに、CF<sub>3</sub>-ADIsの合成中間体より有機金属試薬を用いた各種官能基変換を行い、種々の三置換アルケン型イソスターを合成した。

このCF<sub>3</sub>-ADIsを含む三置換アルケン型イソスターの分岐的合成法は、ジペプチド等価体の効率的な合成および機能評価を可能にするため、新規イソスター創製の観点から有用な方法論である。

### 2 - 1. アミジン型ペプチド結合等価体の設計とニトリルオキシドを用いた合成

アミジン型ペプチド結合等価体 **7** はペプチド結合のカルボニル基をイミノ基で置換した構造的相同性の高いイソスターである。著者は、固相上で合成したペプチドアルドキシム **3** より系中で生成可能なニトリルオキシド **4** を利用し、アミノ酸もしくはペプチドの $\alpha$ -アミノ基 **5** との反応によって得られたアミドキシム **6** を鍵中間体として、目的とするアミジン型イソスター **7** を簡便に合成した (Scheme 2)。

Scheme 2. Synthetic Scheme for Amidine-type Isostere **7** Using Nitrile Oxide **4**



インテグリン $\alpha_v\beta_3$ アンタゴニストとして知られる環状RGDペプチドをモデルペプチドとして、ニトリルオキシドを用いた環化反応によるアミジン型イソスターの合成を検討した。固相担体に結合したアミノアルドキシムからFmoc固相合成法でペプチドを伸長し、鎖状ペプチドアルドキシムを高収率で得ることが出来た。得られたアルドキシムにクロロ化剤と塩基を作用させるとニトリルオキシドを経由した環化反応が進行し、続く還元反応によりアミジン含有RGDペプチド誘導体 **8** を得た (Figure 2)。また環化生成物であるアミドキシムを加水分解し、RGDペプチド **9** を得ることに成功した。本反応は、アミジン型ペプチド結合等価体を簡便に合成できるだけでなく、環状ペプチドの合成法として応用可能であることを明らかにした。

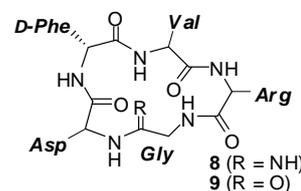


Figure 2. Structures of Integrin Antagonists

## 2 - 2. アミジン型ペプチド結合等価体を含む新規 CXCR4 拮抗剤のデザインと合成

所属研究室ではこれまでに、ケモカイン受容体 CXCR4 拮抗活性を示す環状ペプチド FC131 に種々のペプチドミメティクスを導入した誘導体による構造活性相関研究を展開してきた。この中でペプチド結合のカルボニル酸素に相当する重原子が環状ペプチドのコンフォメーション制御に重要であることが示唆されるとともに、低分子 CXCR4 拮抗剤 AMD3100 や AMD11070 等に見

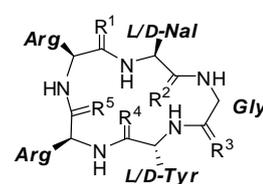


Figure 3. Structures of FC131 Derivatives (R = NH or O)

られるように 3 つ以上の塩基性官能基を配置することが高活性誘導体の創製に必要であることから、著者はアミジン型ペプチド結合等価体を含む FC131 誘導体をデザインした。

前節で示した合成法を用い、FC131 の各々のペプチド結合を等価体に変換した誘導体 (立体異性体を含む) を合成した (Figure 3)。これらの誘導体について SDF-1 の結合阻害活性を評価したところ、数種類の誘導体が FC131 に比べて高い結合阻害活性を示した。以上のように、アミジンが、ペプチド結合等価体としての特性に加え、塩基性ファルマコフォアを付与する新たな構造モチーフとして有用であることが示唆された。

以上の結果は、ペプチド結合等価体を用いた生理活性ペプチドの構造・機能解析研究及び創薬研究への応用の為の有用な基礎的知見を与えるものと考えられる。

(論文審査の結果の要旨)

生体内で容易に加水分解を受けるペプチド結合の非水解性結合への置換は、ペプチドリード創薬において重要な手法のひとつである。フルオロアルケン型イソスターをはじめとするアルケン型イソスターは、ペプチド結合の二重結合性を模倣した構造的相同性の高いイソスターであり、有用性を示す例が種々報告されている。一方、ペプチド結合部位を模倣するだけでなく、新たな構造的、静電的特性を追加することで活性の向上に成功した例として、還元アミド型イソスターが報告されており、機能追加型の変換は重要なアプローチとなっている。このような背景のもと、著者は $\text{CF}_3$ アルケン型ジペプチドイソスターとアミジン型イソスターに着目した。 $\text{CF}_3$ アルケン型イソスターはペプチド結合との静電的相同性を有するイソスターであり、アミジン型イソスターはペプチド結合の二重結合性に加えて塩基性官能基としての機能を期待できるイソスターである。しかしながら、これらのイソスターの実用的かつ効率的合成法は確立されておらず、生理活性ペプチドへの応用は殆どなされていない。そこで著者は2種のイソスターの効率的合成法の確立と生理活性ペプチドへの応用を目的として本研究に着手した。

まず著者は、 $\text{CF}_3$ アルケン型ジペプチドイソスターの合成に着手した。本イソスターを合成する上で課題となっていた $\delta$ 位の不斉点の立体化学を制御するために、出発原料として $\alpha$ アミノ酸を用いた。すなわち、 $\alpha$ アミノ酸から得られる数工程で誘導した $\text{CF}_3$ アルケン含有アリルカルボナートに対してパラジウム触媒を用いたカルボニル化反応を行うことで、 $\delta$ 位の立体化学を制御したPhe-Gly型イソスターの合成に成功した。カルボニル化反応を行う際に、予想に反して生成物が*E/Z*混合物として得られたが、アミノ基の保護基をBoc基からdi-Boc基へと変換することで、目的とする*Z*体の $\text{CF}_3$ アルケン型ジペプチドイソスターを選択的に得ることができた。また、本合成法の合成中間体であるトリフラートに対し、種々のアルキル基、アリール基を導入することで、各種の三置換アルケン型イソスターの合成に応用できることを明らかにした。

次に著者はアミジン型イソスターの合成法の開発に取り組んだ。著者はアミノオキシレジンからペプチド固相合成法を用いて誘導したペプチドアルドキシムに対してクロロ化剤を添加して系内でニトリルオキシドを生成させ、アミンとの反応によりアミドキシムを得、続く還元反応により目的とするアミジン型イソスターを合成することに成功した。著者は本方法を用いて環状RGDペプチドにアミジンユニットを導入し、本法がアミジン含有環状ペプチドの合成に適していることを明らかにした。また、合成中間体であるアミドキシムを加水分解することでペプチド結合へと変換し、本合成法が新たな環状ペプチド合成法としても有用であることを示した。

ケモカイン受容体CXCR4はHIV-1の宿主細胞への侵入時のコレセプターであることが報告されており、種々のCXCR4アンタゴニストが報告されている。これらのアンタゴニストは骨格上の類似点は少ないが、いずれも分子内に複数の塩基性官能基を有しており、これらの塩基性官能基がCXCR4受容体内の酸性アミノ酸側鎖と相互作用することが報告されている。著者は、所属研究室で開発された強力なCXCR4アンタゴニストであるFC131が分子内に2つの塩基性官能基を有するのみであることから、環状ペプチド構造を有するFC131に新

たな塩基性官能基を導入することで活性の向上が期待できるものと考え、アミジン含有FC131誘導体をデザインし、合成及び活性評価を行った。FC131のすべてのペプチド結合をそれぞれアミジンに変換したアミジン含有ペプチド5種と、その内2種の立体異性体の計7種のペプチドを合成し、SDF-1結合阻害活性と抗HIV活性を評価したところ、強力な活性を有する5種類の化合物を見出した。さらに以前のFC131誘導体研究の結果と比較することにより、塩基性官能基であるアミジンユニットが活性の向上に大きく寄与していることを明らかにした。

以上、著者はパラジウム触媒を用いたPhe-Gly型CF<sub>3</sub>アルケンジペプチドイソスターの新規合成法を開発した。一方、ニトリルオキシドを用いたアミジン型ペプチドイソスターの合成法を開発し、これを応用することにより強力な新規CXCR4アンタゴニストを創出した。

本論文に記載された内容は、CXCR4を標的とする創薬研究のみならず、生理活性ペプチドをリードとする創薬化学の発展に寄与する重要な知見を提供すると判断される。

よって本論文は博士（薬学）の学位論文として価値あるものと認める。

さらに、平成23年2月21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。

論文内容の要旨及び審査の結果の要旨は、本学学術情報リポジトリに掲載し、公表とする。特許申請、雑誌掲載等の関係により、学位授与後即日公表することに支障がある場合は、以下に公表可能とする日付を記入すること。

要旨公開可能日： 平成 23 年 6 月 1 日以降