

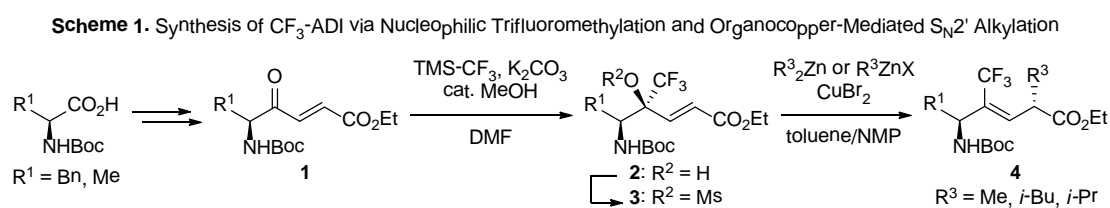
(続紙 1)

京都大学	博士 (薬学)	氏名	小林 数也
論文題目	Synthesis and Application of Functional Units for Biologically Active Peptides (ペプチド性機能素子の合成と生物活性ペプチドへの応用)		

(論文内容の要旨)

ペプチド結合はその特異な静電的・立体的特徴から、ペプチドの二次構造及び三次構造の制御や標的分子との分子間相互作用において重要な役割を果たしている。このため、ペプチドの特徴を模倣及び改善したり、新たな機能を付加することで、生物活性の向上や新しい機能の創出が可能である。著者は、目的に応じた数例のペプチド性機能素子の合成法を確立するとともに、これらを環状ペプチドに応用しその機能を精査した。

1. 求核的トリフルオロメチル化反応と有機銅試薬を用いたアルキル化反応を鍵反応とするトリフルオロメチルアルケン型ジペプチドイソスターの合成



トリフルオロメチルアルケン型ジペプチドイソスター (CF₃-ADI) は、ペプチド結合と類似の双極子モーメントと高い構造的相同性を有するプロテアーゼ耐性付加型のジペプチド等価体である。所属研究室ではXaa-Gly型イソスターの立体選択的合成法を報告したが、イソスターα位側鎖の構築における立体制御に課題を残していた。

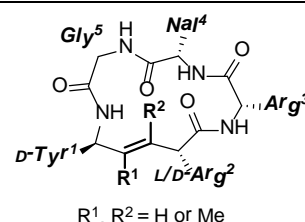
著者は、求核的トリフルオロメチル化反応と有機亜鉛銅複合試薬を用いたアルキル化反応を用いることでα位に側鎖を有するイソスターの新規合成法を確立した。天然アミノ酸から数工程で誘導した不飽和エステル**1**に対して、求核的トリフルオロメチル化反応によりCF₃含有アリルアルコール**2**を合成後、メシラート**3**へと変換した。有機亜鉛銅複合試薬を用いたアルキル化反応による各種側鎖修飾基の導入を試みたところ、6種類のイソスター**4**が効率よく得られた (Scheme 1)。また、本反応においてトリフルオロメチル基が立体選択性に及ぼす影響について興味深い知見が得られた。

2. 多置換アルケン型ジペプチドイソスターを用いた CXCR4拮抗剤 FC131の構造活性相関研究

FC131は、強力なケモカイン受容体CXCR4拮抗活性を示す環状ペプチドである。所属研究室では、FC131の構造活性相関研究を通して活性必須残基の同定や溶液中での構造解析が行われ、FC131のD-Tyr¹-Arg²部位周辺の微細構造の生物活性

への寄与が示唆されていた。しかしながら、一部の高活性 FC131誘導体においてこのペプチド結合が *cis/trans* 体の混合物として存在したことから、この部分構造の活性コンフォメーションの推定がさらなる構造最適化研究を進める上での課題となっていた。

著者は、*cis/trans* 異性化を起こさないアルケン型ジペプチドイソスターを導入した各種 FC131誘導体を合成し、その構造活性相関研究を行った (Figure 1)。イソスター含有誘導体の活性は、それぞれの親化合物の活性の傾向とよく一致しており、各種置換様式を有するアルケン型ジペプチドイソスターを利用した構造活性相関研究の有効性が示された。また、最近報告された CXCR4の結晶構造に基づいて各誘導体の結合構造解析を行ったところ、最も高い活性を示した誘導体が FC131とは異なる結合様式で CXCR4と作用していることが示唆された。



R¹, R² = H or Me

Figure 1. Structures of FC131 Derivatives

3. Fmoc 固相合成法によるデフェリフェリクリシンの合成と新規金属キレート錯体の探索

デフェリフェリクリシンは麴菌から産生される鉄キレート性環状ヘキサペプチドであり、3つのアミノ酸側鎖に *N*-ヒドロキシアミド (ヒドロキサム酸) を有している

(Figure 2)。著者はまず、デフェリフェリクリシンおよびその誘導体の合成に応用可能な汎用性の高い *N*-ヒドロキシアミド含有ペプチドの効率的合成法を確立した。また、金属キレート能付加型の機能性ユニットである *N*-ヒドロキシアミドは鉄以外の金属にも配位することが知ら

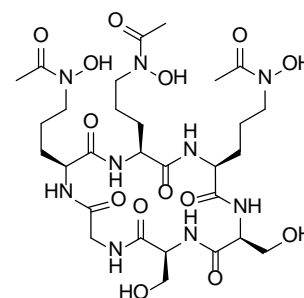


Figure 2. Structure of Deferriferrichrysin

れていることから、反応触媒や診断・治療薬への応用が期待できる新規ペプチド性金属キレート錯体の探索を行った。化学合成したデフェリフェリクリシンを基にキレート錯体の探索を行ったところ、チタン及びジルコニウムと配位した2種類の新規金属キレート錯体を同定することに成功した。

(論文審査の結果の要旨)

生体内で多様な生物活性を発現するペプチドは、新規治療薬や生体内情報伝達機構解明のツールとしての応用が期待されることから、それらの構造機能解析はペプチドをリード化合物とした創薬研究における重要な課題の一つである。ペプチドはペプチド結合等からなる主鎖骨格と多様な官能基を含む側鎖の組み合わせからなる。ペプチドに含まれる構造モチーフを様々な機能素子へ変換することによりその機能の修飾・向上を試みる手法は、ペプチドの機能解析や高活性化合物の探索のための有力な手法と考えられている。著者は、ペプチドの主鎖及び側鎖官能基に適応可能な数例のペプチド性機能素子の合成法を確立するとともに、これらの環状ペプチドへの応用による機能の実証研究を行い、以下に示す知見を得た。

まず著者は、トリフルオロメチルアルケン型ジペプチド等価体の合成法の開発研究を実施した。トリフルオロメチルアルケン型ジペプチド等価体は比較的大きな双極子モーメントと高い構造的相同性を有するペプチドミメティクスであり、その特徴からペプチド性機能素子としての有用性が期待されている。著者は、求核的トリフルオロメチル化反応と有機銅試薬を用いた S_N2 '型アルキル化反応を鍵反応とする新規合成経路を計画した。 α -アミノ酸から誘導した α,β -不飽和- γ -ケトエステルに対する γ 位への位置選択的トリフルオロメチル化反応を検討した結果、触媒量のアルコールの添加により反応効率が大幅に改善することを見出した。続く S_N2 '型アルキル化反応において、通常有機銅試薬では目的物を得ることができなかったが有機亜鉛-銅複合試薬を用いることでジペプチド等価体の α 位に各種側鎖官能基を導入する方法を確立し、ペプチド性機能素子として6種類のトリフルオロメチルアルケン型ジペプチド等価体を得た。また、トリフルオロメチル基が S_N2 '反応時における立体選択性に及ぼす影響を明らかにした。

次に著者は、多置換アルケン型ジペプチド等価体を用いたCXCR4受容体拮抗剤FC131の構造活性相関研究を実施した。FC131は、著者らの研究室において見出されたケモカイン受容体CXCR4に対する強力なアンタゴニスト活性を示す環状ペプチドである。著者は、FC131のD-Tyr¹-Arg²ジペプチド周辺の局所構造の生物活性への寄与に関する過去の構造活性相関研究に基づき、オレフィン上の置換様式が異なる各種アルケン型ジペプチド等価体をD-Tyr¹-Arg²部位に導入したFC131誘導体の合成と各誘導体の活性コンフォメーションの解析を行った。合成したジペプチド等価体含有誘導体の活性は、それぞれの親化合物の構造活性相関の傾向とよい一致を示し、それらの構造解析から各誘導体の活性の変化を合理的に説明可能な推定結合構造を得た。また、四置換アルケン型等価体を用いた結合構造解析から、FC131誘導体の中で最も高い活性を示す誘導体が、FC131とは異なる結合様式でCXCR4と相互作用していることを示唆する結果が得られた。

次に、著者は、デフェリフェリクリシンに関する研究を実施した。鉄キレート性環状ヘキサペプチドであるデフェリフェリクリシンは、側鎖に金属キレート能を有する機能素子であるヒドロキサム酸を有する。このようなペプチドは、鉄以外にも

種々の金属と錯体を形成し、反応触媒や診断・治療薬への応用が期待できることから、著者はデフェリフェリクリシン誘導体の効率的合成法の確立を計画した。著者は、Fmoc固相合成法に適用可能なアミノ酸ユニットとして N^{δ} -アセチル- N^{δ} -ヒドロキシオルニチン誘導体を合成し、このアミノ酸ユニットを用いることで、デフェリフェリクリシン及びその誘導体の効率的合成法を確立した。続いて、合成したデフェリフェリクリシンを用いて各種金属塩とのキレート錯体の探索を行い、チタン及びジルコニウムとキレート錯体を形成することを明らかにした。

以上のように、著者はペプチドの主鎖構造及び側鎖官能基の機能評価に利用可能な各種ペプチド性機能素子の合成法を確立し、それらを構造活性相関研究や新規機能性ペプチドミメティクスの探索へと応用した。これらの結果は、ペプチドをリード化合物とした創薬研究の発展に寄与する重要な知見を含む研究成果であると評価できる。

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24年2月23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 年 月 日以降