

分岐骨格を有するペプチド性天然物および
その誘導体の合成研究

2022

鈴木 力斗

目次

序論.....	1
第一章 Coibamide A の構造活性相関研究	8
第一節 研究の背景	8
第二節 Coibamide A の大環状構造の構造活性相関研究	11
第三節 Coibamide A の Tyr(Me)部位の構造最適化による高活性誘導体の創製.....	14
第四節 Coibamide A のマクロラクトン部位の構造活性相関研究	17
第五節 Coibamide A 誘導体の生物活性評価	24
第六節 小括	27
第二章 Vitilevuamide の合成研究.....	56
第一節 研究の背景	56
第二節 Vitilevuamide の合成計画	57
第三節 モデルペプチドを用いた vitilevuamide の二環性骨格の構築プロセスの確立	59
第四節 非天然型側鎖を有する保護アミノ酸の合成	67
第五節 小括	70
結論.....	84
謝辞.....	85

序論

環状ペプチドは、高い標的親和性、膜透過性、生体内安定性を有することが可能であり、細胞内のタンパク質間相互作用を阻害する薬剤のための創薬スキファールドとして期待されている¹⁻⁴。また、医薬品の創製の領域では、治療が困難な疾患に対する治療薬開発のためのシーズとして利用されるだけでなく、低分子医薬品の設計のためのリード化合物⁵、診断薬⁶、キャリア⁷としても応用されている。

これまでに、数多くの環状ペプチド構造からなる天然有機化合物が報告されており、実際に医薬品として利用されている代表的な例として cyclosporin A (**1**) が挙げられる (Figure 1)。真菌から単離された環状ペプチドである cyclosporin A は、細胞内のタンパク質 cyclophilin A と複合体を形成し、calcineurin を阻害する免疫抑制剤として知られている⁸。臨床では経口剤として使われており、優れた受動膜透過性や良好な経口アベイラビリティを示す⁹ことから、cyclosporin A をモデルとした head-to-tail 型の環状ペプチドの膜透過性に関する研究が数多く報告されている¹⁰⁻¹⁶。

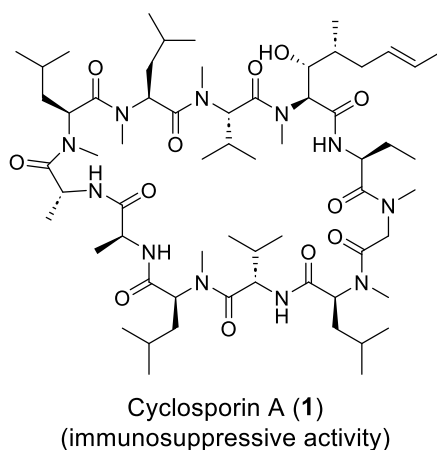


Figure 1. Structure of Cyclosporin A

天然から単離される環状ペプチドには、cyclosporin A のような head-to-tail 型の環状ペプチドだけでなく、分岐骨格を有する環状ペプチドや二環性の環状ペプチドをはじめとする特徴的な骨格からなる環状ペプチドが単離されている。このようなユニークな形状からなる環状ペプチドにも、これまで報告例のない細胞内の標的分子に作用して生物活性を示すものが報告されている¹⁷。これら分岐型や二環性の環状ペプチドは、cyclosporin A のような head-to-tail 型の環状ペプチドに比べて物理化学的特性を調べられている例が少ないものの¹⁸、daptomycin (**2**)¹⁹ や romidepsin (**3**)²⁰ のように医薬品として臨床応用されている環状ペプチドも知られている (Figure 2)。

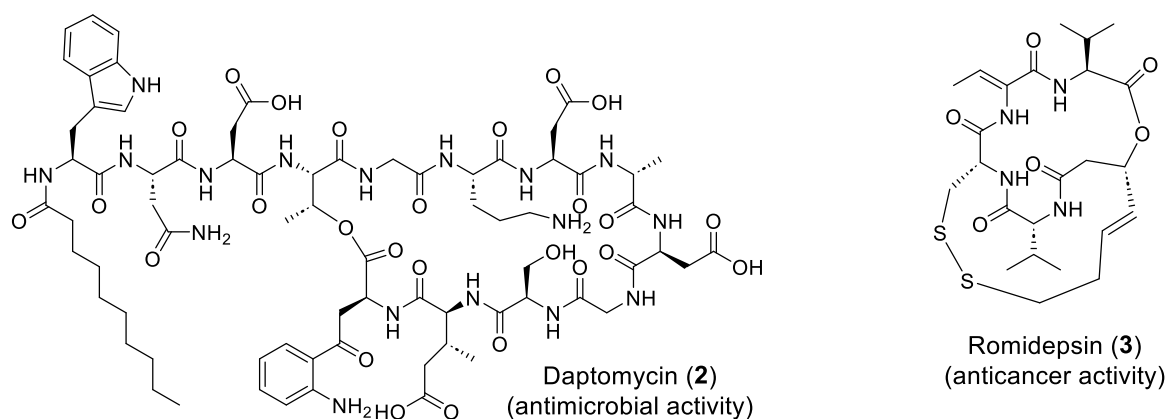


Figure 2. Approved Pharmaceuticals of Branched Cyclic Peptide Natural Products

魅力的な生物活性を示す環状ペプチドの創薬研究の初期段階において必要となるのは、化学構造の決定である。ペプチド性化合物の構造決定には、一般的な天然有機化合物の構造決定で用いられる質量分析や NMR スペクトル解析だけでなく、キラルアミノ酸分析²¹や生合成遺伝子解析などを組み合わせることが可能である。しかしながら、分子サイズが大きいペプチド性化合物の構造決定においては、スペクトルやクロマトグラム上での分離が困難であることなどにより、立体配置を確定できない部分構造が残されている場合や、間違った構造決定がなされている場合がある^{22,23}。こうした局面では、天然由来のサンプルのスペクトル解析などにより類推した化学構造の妥当性について、全合成研究により得られた化学合成品との比較により評価することが有効である。

所属研究室では、海洋天然物由来のオーリライド型ペプチド性天然物の一種である odoamide (4) の化学合成研究に取り組み、スペクトル解析等では判別できなかったポリケチド部分の立体配置を決定した^{24,25} (Figure 3)。この全合成経路の確立に向けた研究においては、合成研究の過程で各種立体異性体や誘導体が得られただけでなく、新たに確立した合成プロセスなどを活用することにより、天然物には見られない修飾を施した類縁体化合物 5 の創製に展開することができた²⁶。

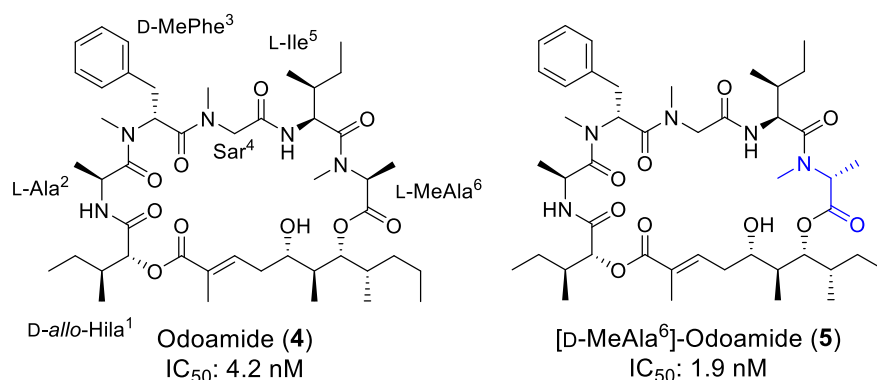


Figure 3. Structures of Odoamide and Its Derivative

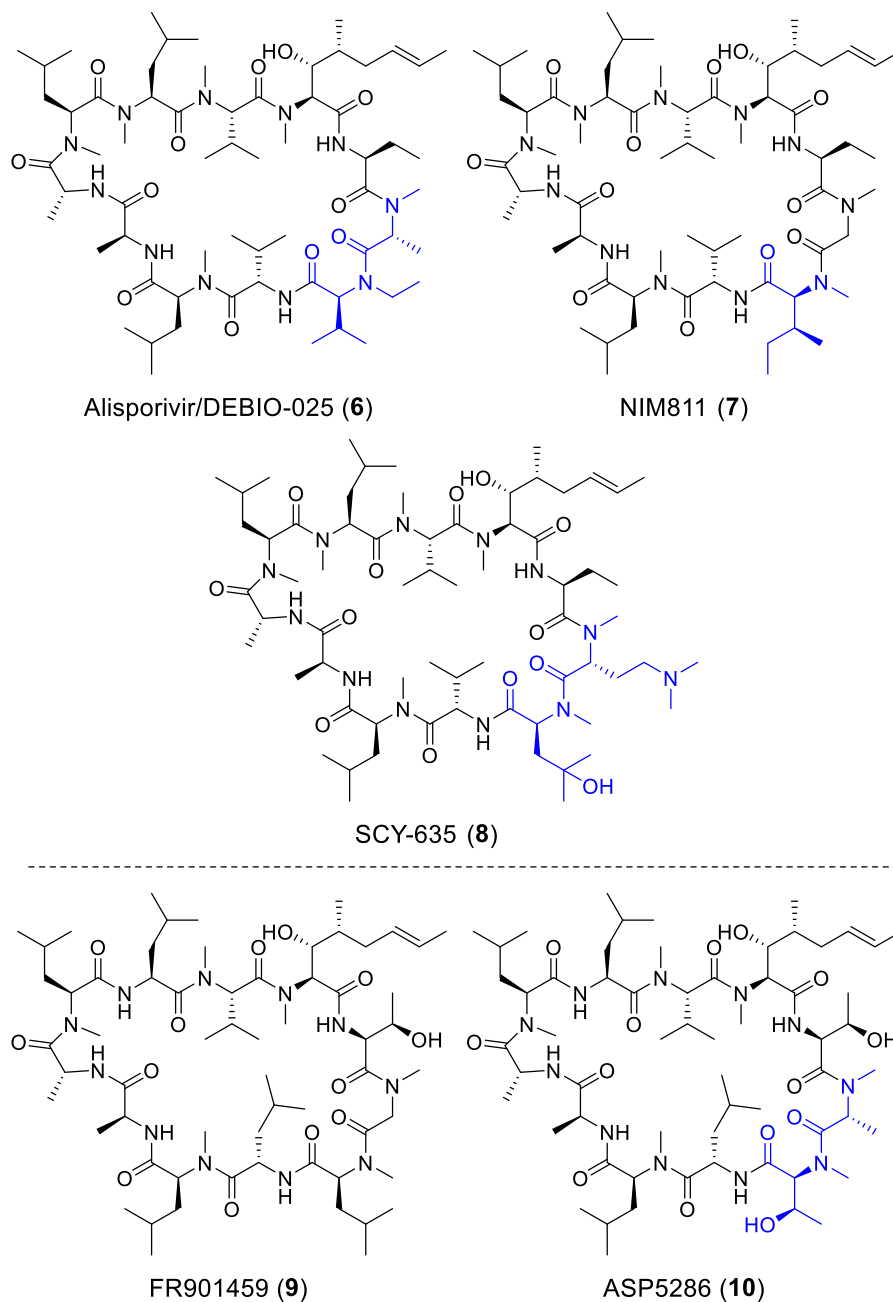


Figure 4. Structures of Non-immunosuppressive Cyclosporin A Derivatives for Anti-HCV Agents

このような環状ペプチド骨格からなる天然物での創薬研究の例として、前述の cyclosporin A の大環状骨格を活かした C 型肝炎ウイルス (HCV) に対する抗ウイルス剤の創製研究が挙げられる²⁷。すなわち、cyclosporin A が HCV の複製を抑制するとの知見²⁸を端緒として、免疫抑制活性を示さずに HCV に対する抗ウイルス活性のみを示す cyclosporin A 誘導体が設計された (Figure 4)。この構造最適化研究では、cyclosporin A 中の cyclophilin A との相互作用面を維持する一方で、calcineurin との相互作用ができないように環状ペプチドの部分構造を化学修飾することで、活性の分離に成功している。この創薬研究で得られた

alispovir/DEBIO-025 (6)²⁹、NIM811 (7)³⁰、SCY-635 (8)³¹ は、いずれも C 型肝炎ウイルス感染症治療薬への応用を目指した臨床試験が実施されている。また、アステラス製薬の研究グループは、同様のアプローチにより、*Stachybotrys chartarum* の培養液から単離された cyclosporin A 類似の天然物 FR901459 (9)³² からの構造展開により、優れた生物活性プロファイルを示す抗 HCV 活性ペプチド ASP5286 (10) およびその誘導体を見出している³³⁻³⁵。

このように、特徴的な化学構造からなる環状ペプチドやその誘導体を化学合成して構造活性相関研究を行うことは、新規医薬品の創製につながる実用的な知見だけでなく、特定の標的分子との相互作用や膜透過性に有効な部分構造の特定をはじめとする基礎的知見を提供することから、創薬科学における重要な研究課題である³⁶。分岐骨格をはじめとする複雑な化学構造を有する環状ペプチドの誘導体は、翻訳系を用いた生物学的アプローチにより調製できる場合もあるが、蛍光標識誘導体をはじめとするプローブの創製やこれを用いた標的探索研究へも展開できるという点で、化学合成・修飾を用いたアプローチが有効である。

こうした背景のもと、著者は、細胞内のタンパク質に作用して生物活性を示すペプチド性天然物からの創薬研究の一環として、分岐骨格を有する 2 つの環状ペプチドの合成研究を行った (Figure 5)。

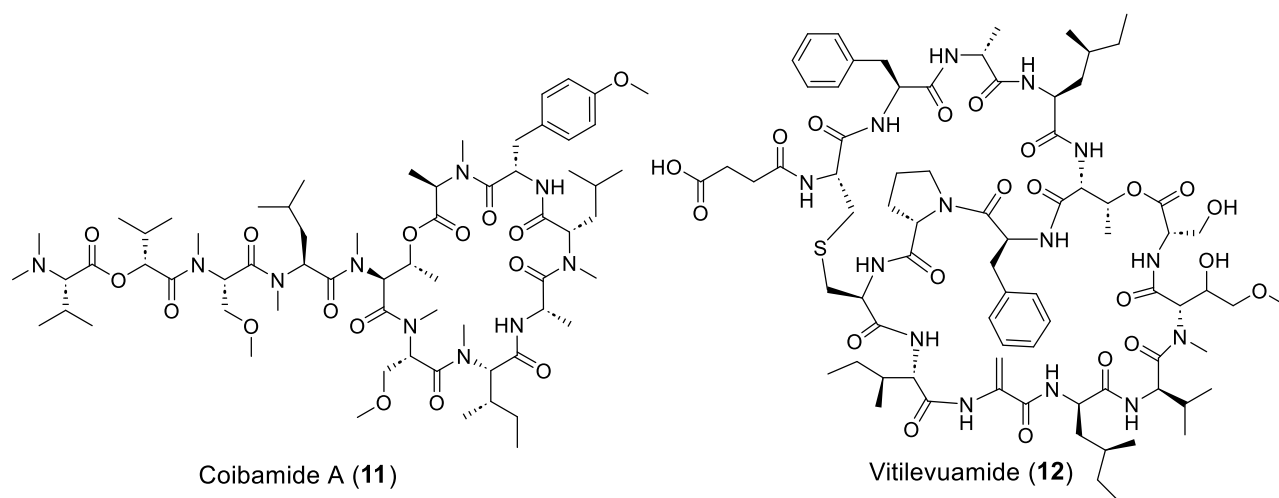


Figure 5. Branched Cyclic Peptide Natural Products Presented in This Thesis

第一章では、投げ縄構造からなる環状デプシペプチド coibamide A (11) の構造活性相関研究について論述する。著者は、化学合成が容易な coibamide A の簡易構造誘導体をリード化合物として、複数のアプローチで構造活性相関研究を行った。Coibamide A と同じ標的分子に作用し共通の部分構造を有する天然物 apratoxin A およびその誘導体の構造活性相関情報を参考にし、coibamide A に含まれる芳香族アミノ酸の構造活性相関研究を展開した。また、coibamide A のマクロラクトンを構成するエステル結合周辺の部分構造に関する構造活性相関研究を実施した。これらの検討を通して、coibamide A の芳香族アミノ酸の側鎖をかさ高

い芳香環に置換すると細胞増殖抑制活性が大幅に向上すること、**coibamide A** のエステル結合をアミド結合や炭素-炭素二重結合に置換しても活性が維持されること、およびこの部分構造の2つのメチル基が生物活性に重要な役割を果たしていることを明らかにした。

第二章では、二環性環状ペプチド **vitilevuamide (12)** の合成研究について論述する。著者は、**vitilevuamide** の化学構造の決定、並びに、構造最適化研究や標的分子・相互作用様式の解明に利用可能なプローブ分子の合成に資する **vitilevuamide** の化学合成プロセスの確立に向けた検討を行った。**Vitilevuamide** に含まれる複数の非天然型側鎖を有するアミノ酸を天然アミノ酸に置き換えたモデルペプチドを設計し、**vitilevuamide** の二環性骨格の効率的な構築を目指した検討を実施した。また、**vitilevuamide** 中の未決定の立体配置を同定するために必要となる *N*-メチルヒドロキシメトキシニンをはじめとする非天然型側鎖を有するアミノ酸について、固相合成に適用可能な適切な保護基を有するアミノ酸誘導体の合成法を検討した。これらの検討を通して、すべての非天然型アミノ酸の化学合成プロセスを確立するとともに、**vitilevuamide** の合成において鍵となる二環性骨格の構築とデヒドロアラニンへの変換を含むモデルペプチドの合成プロセスを確立した。

参考文献

1. Naylor, M. R.; Bockus, A. T.; Blanco, M. J.; Lokey, R. S. *Curr. Opin. Chem. Biol.* **2017**, *38*, 141.
2. Gang, D.; Kim, D. W.; Park, H. S. *Genes* **2018**, *9*, 557.
3. Abdalla, M. A.; McGaw, L. J. *Molecules* **2018**, *23*, 2080.
4. Ramadhani, D.; Maharani, R.; Gazzali, A. M.; Muchtaridi, M. *Molecules* **2022**, *27*, 4428.
5. Yoshida, S.; Uehara, S.; Kondo, N.; Takahashi, Y.; Yamamoto, S.; Kameda, A.; Kawagoe, S.; Inoue, N.; Yamada, M.; Yoshimura, N.; Tachibana, Y. *J. Med. Chem.* **2022**, *65*, 10655.
6. Hwang, D.W.; Bahng, N.; Ito, K.; Ha, S.; Kim, M.Y.; Lee, E.; Suga, H.; Lee D.S. *Cancer Lett.* **2017**, *385*, 144.
7. Fu, C.; Yu, L.; Miao, Y.; Liu, X.; Yu, Z.; Wei, M. *Acta Pharm. Sin. B* **2022**, 10.1016/j.apsb.2022.07.020
8. Grevel, J.; Nuesch, E.; Abisch, E.; Kutz, K. *Eur. J. Clin. Pharmacol.* **1986**, *31*, 211.
9. Corbett, K. M.; Ford, L.; Warren, D. B.; Pouton, C. W.; Chalmers, D. K. *J. Med. Chem.* **2021**, *64*, 13131.
10. Rezai, T.; Yu, B.; Millhauser, G. L.; Jacobson, M. P.; Lokey, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2006**, *128*, 2510.
11. Pye, C. R.; Hewitt, W. M.; Schwochert, J.; Haddad, T. D.; Townsend, C. E.; Etienne, L.; Lao, Y.; Limberakis, C.; Furukawa, A.; Mathiowetz, A. M.; Price, D. A.; Liras, S.; Lokey, R. S. *J. Med. Chem.* **2017**, *60*, 1665.
12. Nielsen, D. S.; Hoang, H. N.; Lohman, R. J.; Hill, T. A.; Lucke, A. J.; Craik, D. J.; Edmonds, D. J.; Griffith, D. A.; Rotter, C. J.; Ruggeri, R. B.; Price, D. A.; Liras, S.; Fairlie, D. P. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2014**, *53*, 12059.
13. Wang, C. K.; Northfield, S. E.; Swedberg, J. E.; Colless, B.; Chaousis, S.; Price, D. A.; Liras, S.; Craik, D. J. *Eur. J. Med. Chem.* **2015**, *97*, 202.
14. Nielsen, D. S.; Shepherd, N. E.; Xu, W.; Lucke, A. J.; Stoermer, M. J.; Fairlie, D. P. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 8094.
15. Dougherty, P. G.; Sahni, A.; Pei, D. *Chem. Rev.* **2019**, *119*, 10241.
16. Wang, C. K.; Swedberg, J. E.; Harvey, P. J.; Kaas, Q.; Craik, D. J. *J. Phys. Chem. B* **2018**, *122*, 2261.
17. Eghtedari, M.; Jafari Porzani, S.; Nowruzi, B. *Phytochem. Lett.* **2021**, *42*, 87.
18. Kelly, C. N.; Townsend, C. E.; Jain, A. N.; Naylor, M. R.; Pye, C. R.; Schwochert, J.; Lokey, R. S. *J. Am. Chem. Soc.* **2021**, *143*, 705.
19. Raja, A.; LaBonte, J.; Lebbos, J.; Kirkpatrick, P. *Nat. Rev. Drug Discov.* **2003**, *2*, 943.
20. Grant, C.; Rahman, F.; Piekarczyk, R.; Peer, C.; Frye, R.; Robey, R. W.; Gardner, E. R.; Figg, W. D.; Bates, S. E. *Expert Rev. Anticancer Ther.* **2010**, *10*, 997.
21. Fernandes, C.; Ribeiro, R.; Pinto, M.; Kijjoo, A. *Molecules* **2023**, *28*, 615.
22. Suyama, T. L.; Gerwick, W. H.; McPhail, K. L. *Bioorg. Med. Chem.* **2011**, *19*, 6675.
23. Ha, M. W.; Kim, J.; Paek, S. M. *Mar. Drugs* **2022**, *20*, 171.

24. Sueyoshi, K.; Kaneda, M.; Sumimoto, S.; Oishi, S.; Fujii, N.; Suenaga, K.; Teruya, T. *Tetrahedron* **2016**, *72*, 5472.
25. Kaneda, M.; Sueyoshi, K.; Teruya, T.; Ohno, H.; Fujii, N.; Oishi, S. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, *14*, 9093.
26. Kaneda, M.; Kawaguchi, S.; Fujii, N.; Ohno, H.; Oishi, S. *ACS Med. Chem. Lett.* **2018**, *9*, 365.
27. Han, J.; Lee, M. K.; Jang, Y.; Cho, W. J.; Kim, M. *Drug Discov. Today* **2022**, *27*, 1895.
28. Watashi, K.; Hijikata, M.; Hosaka, M.; Yamaji, M.; Shimotohno, K. *Hepatology* **2003**, *38*, 1282.
29. Ma, S.; Boerner, J. E.; TiongYip, C.; Weidmann, B.; Ryder, N. S.; Cooreman, M. P.; Lin, K. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2006**, *50*, 2976.
30. Paeshuyse, J.; Kaul, A.; De Clercq, E.; Rosenwirth, B.; Dumont, J. M.; Scalfaro, P.; Bartenschlager, R.; Neyts, J. *Hepatology* **2006**, *43*, 761.
31. Hopkins, S.; Scoreaux, B.; Huang, Z.; Murray, M. G.; Wring, S.; Smitley, C.; Harris, R.; Erdmann, F.; Fischer, G.; Ribeill, Y. *Antimicrob. Agents Chemother.* **2010**, *54*, 660.
32. Sakamoto, K.; Tsujii, E.; Miyauchi, M.; Nakanishi, T.; Yamashita, M.; Shigematsu, N.; Tada, T.; Izumi, S.; Okuhara, M. *J. Antibiot.* **1993**, *46*, 1788.
33. Makino, T.; Yoshimura, S.; Yamanaka, T.; Sawada, M.; Barrett, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 127251.
34. Makino, T.; Yoshimura, S.; Neya, M.; Yamanaka, T.; Sawada, M.; Tsujii, E.; Barrett, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 127308.
35. Makino, T.; Ishida, J.; Yamanaka, T.; Ohki, H.; Uchida, M.; Sawada, M.; Barrett, D. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2020**, *30*, 127423.
36. Jwad, R.; Weissberger, D.; Hunter, L. *Chem. Rev.* **2020**, *120*, 9743.