

平成 21 年 6 月 3 日現在

研究種目：若手研究(B)
 研究期間：2007～2008
 課題番号：19790095
 研究課題名（和文） 抗 HIV 活性を有する異常アミノ酸含有ペプチドの合成と阻害能に関する研究
 研究課題名（英文） Synthesis and inhibitory activity of cyclic depsi-peptide with anti-HIV activity
 研究代表者
 今野 博行 (KONNO HIROYUKI)
 京都府立医科大学・大学院医学研究科・助教
 研究者番号：50325247

研究成果の概要：カリペルチン A の固相全合成を目指し、まず予備実験を兼ねたカリペルチン B およびカリペルチン E の固相全合成を行った。構成する異常アミノ酸の安全にかつグラムスケール合成に優れる方法を開発した。つぎに調製した Fmoc-異常アミノ酸類と入手可能な Fmoc-アミノ酸を用いて固相上でペプチドの伸長実験を行った。その結果、カリペルチン E ならびにカリペルチン B の全合成に成功した。今後、環状化の条件検討を引き続き行いながら、アナログ体合成についても行い、CCR5 とのアンタゴニスト活性の測定を行っていく。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	2,200,000	0	2,200,000
2008 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	330,000	3,630,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：医薬品化学

1. 研究開始当初の背景

近年、異常アミノ酸を含有する有機化合物は医薬品のリードや生命現象の解明の鍵を握るような顕著な生物活性を有するものが多く、さらに異常アミノ酸含有物はその構造の多様性などから生物活性を有しながら、分解されにくく、しかも高次構造の形成に関与しやすいといった利点を有している。

Callipeltin A は 1996 年に単離、構造決定され、ペプチド化合物としてはじめて HIV 阻害能を有し、高度に異常アミノ酸化された化合物として注目を浴びており、国外の 3 つのグループが主に合成化学的なアプローチで研究を展開している。しかし、未だ全合成は達

成されていない。異常アミノ酸、ペプチド類の合成は国内外で活発に行われるいるが、複雑な構造を有する天然物を対象にした研究はあまり活発ではなかった。

2. 研究の目的

(1) Callipeltin A の固相全合成

異常アミノ酸を含有する Callipeltin A の全合成ならびにその類縁体合成を達成させ、立体化学を含めた全構造の決定を行う。異常アミノ酸について、その合成法を検討し、各アミノ酸のカップリングならびに脱保護反応の検討を Fmoc-アミノ酸を用いた固相合成で行う。

(2) Callipeltin A ならびにその類縁体を用いた CCR5 阻害能の評価

類縁体合成では異常アミノ酸部分を入手可能なアミノ酸に置き換えた誘導体を多数作成する。Fmoc-固相合成法により、迅速にライブラリー構築を行う。さらに CCR5 を誘導発現した CHO 細胞を用いて CCR5 相互作用による阻害能についてのアッセイを行う。

3. 研究の方法

全合成に向けた戦略 すでに合成法が確立された異常アミノ酸を用いて市販のアミノ酸などとカップリング反応を検討する。液相法でのカップリング反応、脱保護反応については Fmoc 法、Boc 法を併用して行うことにしている。部分構造での立体化学の推測は行われているものの、全構造を用いての報告がないことから、フラグメントカップリングなども用いながらコンバージョンを行う。また、環化の検討のために Alloc, Teoc などの保護基も使用する予定である。その後、固相合成への展開を考慮しすべてを Fmoc-アミノ酸にし、固相上でカップリング反応ならびに脱保護反応を検討して行く。本天然物は異常アミノ酸部分が強酸条件に不安定であることが既に知られているので、アミノ酸側鎖の保護基についても注意を払いながら行う必要がある。これらの検討によって真に有効な物質供給が可能でアナログ体変換に耐える全合成ルートを開拓する。

4. 研究成果

申請書に従い、カリペルチン A の全合成に向けた取り組みを行った。

(1) カリペルチン A の固相全合成を目指し、まず予備実験を兼ねたカリペルチン B およびカリペルチン E の固相全合成を行った。構成する異常アミノ酸である β メトキシチロシンの全立体配置の合成を行い、誘導体に導くことでその立体化学を決定することができた。しかしながら、アジリジンを開環させながらメトキシ基を導入する反応について完全に制御されておらず問題があった。多くの条件を検討した結果、メタノール溶媒中において、室温下ボロントリフレートを滴下することにより立体選択性、化学収率ともに満足のいく結果が得られた。また再現性に優れており、グラムスケールでの合成法に展開することに成功した。3, 4-ジメチルピログルタミンの合成についても大量合成法を確立した。この合成はセリンを出発原料に用いることで、保護基を多く用いる必要性があり、工程数に問題があるものの、安全にかつグラムスケール合成に優れている。

(2) このようにして調製した Fmoc-異常アミノ酸類と入手可能な Fmoc-アミノ酸を用いて固相上でペプチドの伸長実験を行った。まずカリペルチン E の合成を検討した。樹脂には 2-ルロトリチルルロリド樹脂を用い、カップリングを検討した。その結果、アミン成分が N-メチルアミンの時には HATU, HOAt を用いる時がカップリング効率が高く、通常のアミン成分の時には DIPC, HOBt で十分に反応が進行することがわかった。切り出しには HFIP/ジクロロメタンによって定量的に行うことができ、さらに TFA 処理によって保護基を安全に除去することができた。HPLC による精製によって、カリペルチン E の合成に成功した。

(3) つぎにカリペルチン B の合成を検討した。条件は、先と同様に行った。樹脂から切り出された後に環状デプシ化に挑戦した。様々な条件を検討したものの満足のいく結果をえることができなかった。しかしながら、微量ではあるものの望む環状化体も得ることに成功している。ここに、カリペルチン B の全合成を達成することができた。今後、環状化の条件検討を引き続き行い、効率の良い条件を探索する予定である。さらにアナログ体合成についても行い、CCR5 とのアンタゴニスト活性の測定を行って行く予定である。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計 11 件)

- ① Hattori, Y.; Konno, H.; Abe, M.; Miyoshi, H.; Goto, T.; Makabe, H.; Synthesis of (17S, 18S)- and (17R, 18R)-tonkinelin and their inhibitory action with bovine heart mitochondrial complex I. *Bioorg. Med. Chem.* **2007**, *15*, 3026-3031.
- ② Bang, J. K.; Teruya, K.; Aimoto, S.; Konno, H.; Nosaka, K.; Tatsumi, T.; Akaji, K.; Studies on Substrate Specificity at PR/p3 Cleavage Site of HTVL-1 Protease. *Int. J. Peptide Res.*, **2007**, *13*, 173-179.
- ③ Konno, H.; Kubo, K.; Makabe, H.; Toshiro, E.; Nosaka, K.; Akaji, K. Total Synthesis of Miraziridine A and Identification of Its Major Reactive Site for Cathepsin B. *Tetrahedron*, **2007**, *63* (38), 9502-9513.
- ④ Konno, H.; Aoyama, S.; Nosaka, K.; Akaji, K. Synthesis of All Stereoisomers of β -Methoxy Tyrosine Derivatives and Identification of the Absolute Configuration in Callipeltin E, *Synthesis*,

2007, (23), 3666-3672.

- ⑤ Konno, H.; Okuno, Y.; Makabe, H.; Nosaka, K.; Onishi, A.; Abe, N.; Sugimoto, A.; Akaji, K. Total synthesis of *cis*-solamin A, a mono-tetrahydrofuran acetogenin isolated from *Annona muricata*. *Tetrahedron Lett.* **2008**, *49* (5), 782-785.
- ⑥ Onozuka, M.; Konno, H.; Kawasaki, Y.; Akaji, K.; Nosaka, K. Possible involvement of thiaminase II encoded by the *THI20* gene in thiamine salvage of *Saccharomyces cerevisiae*, *J. FEMS Yeast Research*, **2008**, *8* (2), 266-275.
- ⑦ Hattori, N.; Furuhashi, S.; Okajima, M.; Konno, H.; Abe, M.; Miyoshi, H.; Goto, T.; Makabe, H. Synthesis of Pyranicin and its Inhibitory Action with Bovine Heart Mitochondrial Complex I. *Org. Lett.* **2008**, *10* (5), 717-720.
- ⑧ Furuhashi, S.; Hattori, Y.; Okajima, M.; Konno, H.; Abe, M.; Miyoshi, H.; Goto, T.; Makabe, H. Total synthesis of pyranicin and its deoxygenated analogues and their inhibitory action with bovine heart mitochondrial complex I. *Tetrahedron*, **2008**, *64*, 7695-7703.
- ⑨ Tanaka, M.; Tanaka, T.; Ohta, S.; Kawakami, T.; Konno, H.; Akaji, K.; Aimoto, S.; Saito, H. Evaluation of Lipid-Binding Properties of the N-Terminal Helical Segments in Human Apolipoprotein A-I Using Fragment Peptides. *J. Peptide Sci.* **2008**, *15* (1), 36-42.
- ⑩ Nosaka, K.; Onozuka, M.; Konno, H.; Akaji, K. Thiamin-dependent transactivation activity of PDC2 in *Saccharomyces*, *FEBS Lett.* **2008**, *582* (29), 3991-3996.
- ⑪ Akaji, K.; Konno, H.; Onozuka, M.; Makino, A.; Nosaka, K. Evaluation of Peptide Aldehyde Inhibitors using R188I Mutant of SARS 3CL Protease as a proteolysis-resistant mutant, *Bioorg. Med. Chem.* **2008**, *16*, 9400-9408.

[学会発表] (計9件)

- ① 今野博行、久保佳奈子、真壁秀文、野坂和人、赤路健一、第33回反応と合成の進歩

シンポジウム、**2007**, 20-21. (2006年11月5~6日、長崎市、ブリックホール)

- ② 今野博行、久保佳奈子、真壁秀文、野坂和人、赤路健一、Synthesis and structure activity relationship Studies of Miraziridine A, a cysteine protease inhibitor、第45回ペプチド討論会、**2007**, 78. (2007年11月7~9日、富山市、富山コンベンションセンター)
- ③ 赤路健一、今野博行、小野塚真理、齋藤裕行、牧野歩、野坂和人、Evaluation of peptide-based inhibitors using R188I mutant of SARS 3CL protease as a proteolysis-resistant mutant、第45回ペプチド討論会、**2007**, 27. (2007年11月7~9日、富山市、富山コンベンションセンター)
- ④ 辰巳正、粟原千如、仲裕美、相本三郎、今野博行、野坂和人、赤路健一、レトロインベルソペプチド型 HTLV-1 プロテアーゼ阻害剤の合成と構造活性相関、メディシナルケミストリーシンポジウム、**2007**, 222-223 (2007年11月27~29日、相模原市、相模原文化センター)
- ⑤ 今野博行、奥野康弘、真壁秀文、野坂和人、赤路健一、ミトコンドリア Complex I を阻害するアセトゲニン *cis*-solamin-A の合成と阻害能に関する研究、日本薬学会年会、2008年度大会要旨集2、**2008**, 142 (2008年3月28日、横浜市、パシフィコ横浜)
- ⑥ 粟原千如、辰巳正、今野博行、野坂和人、赤路健一、レトロインベルソペプチド型 HTLV-1 プロテアーゼ阻害剤の合成、日本薬学会年会、2008年度大会要旨集2、**2008**, 26 (2008年3月29日、横浜市、パシフィコ横浜)
- ⑦ 高橋麻矢子、野坂和人、今野博行、赤路健一、変異型 SARS3CLprotease を用いた新規アルデヒド型阻害剤の評価、日本薬学会年会、2008年度大会要旨集2、**2008**, 52 (2008年3月29日、横浜市、パシフィコ横浜)
- ⑧ 粟原千如、辰巳正、今野博行、野坂和人、赤路健一、レトロインベルソペプチド型 HTLV-1 プロテアーゼ阻害剤の合成と構造活性相関、第34回反応と合成の進歩シンポジウム、**2008**, 142-143. (2008年11月4日、京都市、京都テルサ)

⑨ 今野博行、野坂和人、赤路健一、
Synthetic Studies on Callipeltins B
and E isolated from marine sponge、第
45 回ペプチド討論会、**2008**, 41. (2008
年 10 月 29 日, 東京都、船堀タワーホー
ル)

⑩ 三井寛法、高橋真矢子、今野博行、野坂和
人、赤路健一、Syntheses and
Evaluations of Peptide based Inhibitors
for R188I Mutant of SARS 3CL
protease、第 45 回ペプチド討論会、**2008**,
132. (2008 年 10 月 28 日, 東京都、船堀
タワーホール)

[その他]

ホームページ等

[http://www.f.kpu-m.ac.jp/y/chem/index.h
tml](http://www.f.kpu-m.ac.jp/y/chem/index.html)

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今野 博行 (KONNO HIROYUKI)

京都府立医科大学・大学院医学研究科・
助教

研究者番号 : 50325247