

## 193. 中分子環状ペプチドを基盤とした創薬化学研究

吉田 将人

\*東北大学 大学院薬学研究科 分子薬科学専攻 反応制御化学分野

Key words : 中分子, 環状ペプチド, 全合成, 三次元構造解析

### 緒言

分子量が 400 から 3,000 程度の中分子環状ペプチド類は鎖状ペプチドとは異なり、環状構造を取ることによる代謝安定性や、分子量が 1,000 を超えていても膜透過性を有する等、創薬研究において必要とされる物性を示すことが知られている。このような理由から、特異な性質を示す中分子環状ペプチドを基盤とした創薬研究が注目されている。その基盤研究として我々は、骨吸収抑制作用を示し、新規骨粗鬆症治療薬のリードとして期待される中分子環状ペプチド **destruxin E** について作用機構の解明を指向した合成研究を現在まで検討しており、効率的な誘導体合成を可能とする固相合成法を利用した全合成、および誘導体合成を基盤とした生物活性評価により構成アミノ酸側鎖の活性相関情報の取得に成功している。本研究では、立体配座と生物活性との相関を明らかにすべく、誘導体合成と三次元構造解析を基盤とした構造活性相関研究を検討し、活性発現に必須となる構造情報の取得に成功したので報告する。

### 方法、結果および考察

我々はすでに **destruxin E** (**1**) について、誘導体合成を指向した固相法による全合成を達成 [1] しており、様々な誘導体を確立した手法により合成可能である。本研究における誘導体は全合成の手法に倣って合成することとした。立体配座と生物活性との相関を明らかにするため、環状ペプチド構造の員数を変換した誘導体を設計した。すなわち、環拡大および環縮小による生物活性の影響を精査するため、天然物 (19 員環) から一炭素減炭した 18 員環誘導体 **2** と一炭素増炭した 20 員環誘導体 **3** を合成および活性評価することにした。**2** および **3** は、対応する天然物 **1** の  $\beta$ -アラニン をグリシンまたは  $\gamma$ -アミノブタン酸に置き換えることにより調製することにした (Fig.1)。

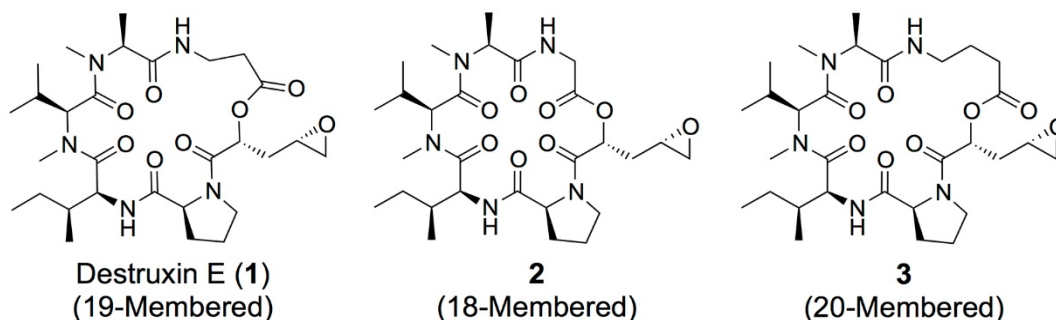


Fig 1. Structures of destruxin E (1) and its derivatives

天然物 **1**、誘導体 **2** および **3** は、固相法を用いて次のように合成した。すなわち、固相上に各アミノ酸を担持した **4** に対し、天然物の全合成と同様に順次 MeAla、MeVal、Ile を縮合することでテトラペプチド **5** とした後に、別途調製した **6** [2] を導入することでヘキサペプチド **7** を得た。固相上での TBS 基の除去と固相からの切り出しにより対応する環化前駆体 **8** を合成し、高希釈条件下での椎名法 (MNBA/DMAPO) によるマクロラクトン化により、所望のマ

\*現在の所属：筑波大学 数理物質系 化学域

クロラクトン **9** を合成することに成功した。最後に、側鎖にエポキシドを構築することで、天然物 **1** とその誘導体 **2** および **3** の全合成に成功した (Fig.2)。得られた誘導体について破骨細胞を用いた形態変化誘導活性を評価した結果、18員環誘導体 **2** は全く生物活性を示さず、一方で 20員環誘導体 **3** は弱いながらも形態変化を誘起できることが分かった。

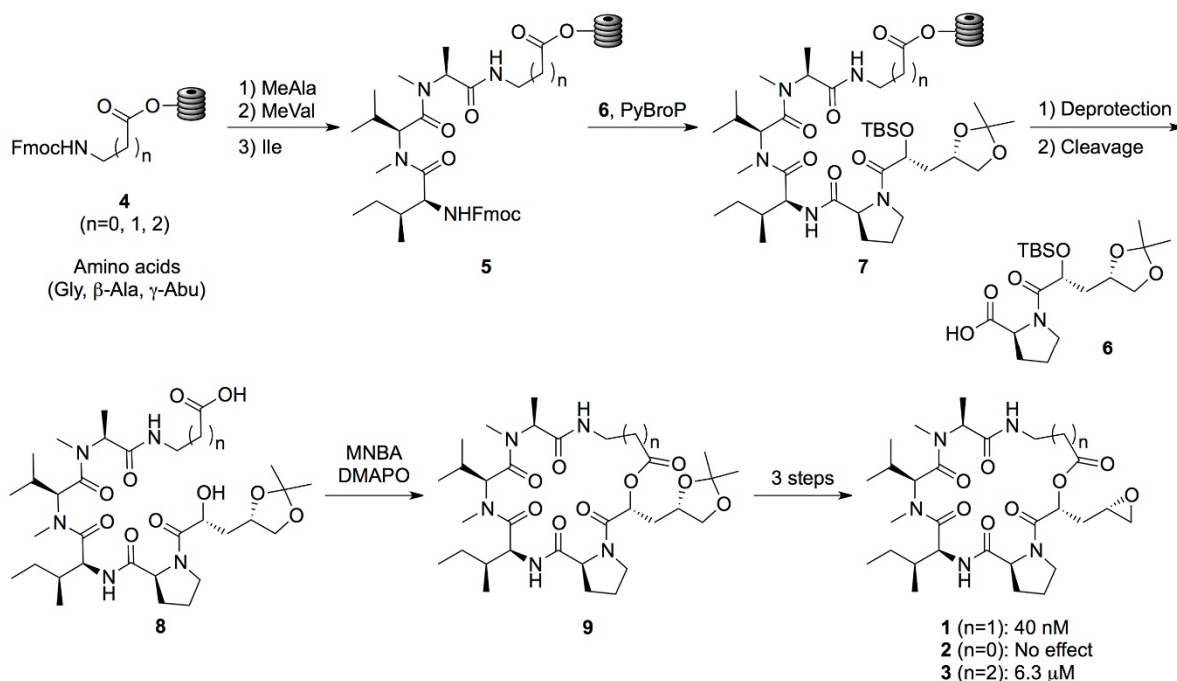


Fig 2. Total synthesis of destruxin E (**1**) and its derivatives **2**, **3**

次に、天然物 **1** について立体配座に関する知見を得るために、二次元 NMR を利用した三次元構造解析を検討した。当研究室において確立した環状ペプチドの立体配座解析法[3]を用いることとし、NOESY のクロスピーク強度 (Fig.3-1) から求めた距離情報を拘束条件として利用した分子力場計算により安定配座を計算した。その結果、Fig.3-2 に示すような MeAla 残基および MeVal 残基間で *cis*-アミドを形成し、また環状ペプチド内に二つの分子内水素結合が存在する三次元構造であることが示唆された。

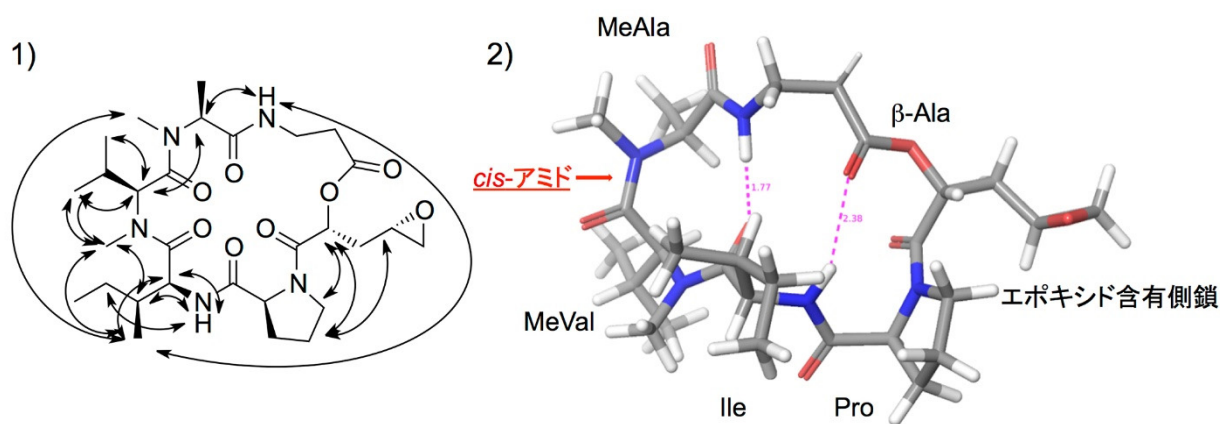


Fig. 3. 1) NOESY correlation of destruxin E (**1**); 2) 3D structure of **1**

二次元 NMR と分子力場計算を用いることで destruxin 類の三次元構造を導くことができたので、誘導体 **2** および **3** の三次元構造を得ることとした。実際に NOESY の相関情報と分子力場計算から導きだした安定配座について、天然物 **1** の安定配座と重ね合わせたものを Fig.4 に示す。いずれの誘導体においても天然物と同様に *cis*-アミドと二つの水素結合を持つことが分かり、環状ペプチド構造に大きく違いがないことが分かった。一方、エポキシド側鎖の空間配置が大きく変化していることが分かった。このことから先に示した生物活性の違いが、エポキシドの空間配置の違いによるものと考えられる。

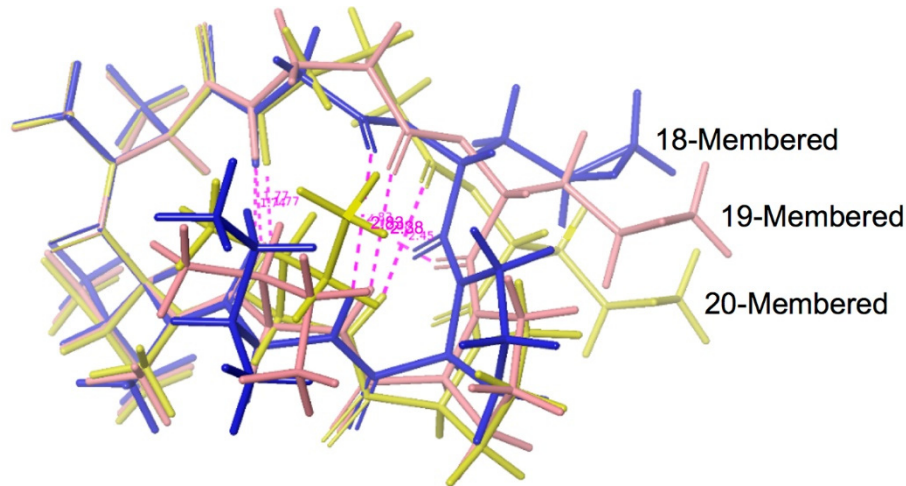


Fig. 4. 1) NOESY correlation of destruxin E (**1**); 2) 3D structure of **1**

次に我々は、destruxin E (**1**) の分子内に存在する *N*-メチルアミド基に注目した。一般的に *N*-メチルアミド基は *cis*-アミドを形成しやすいことが知られているが、**1** の分子内に存在する *N*-メチルアミド基は MeAla-MeVal 間のみが *cis*-アミドであることが、先に示した destruxin E (**1**) の三次元構造解析から示唆されている。そこで、これら *N*-メチルアミド基の重要性を明らかにするため、アミド基に変換した **10** (MeAla to Ala) および **11** (MeVal to Val) を調製し、生物活性を評価することにした。先に示した **1** の全合成に倣い、固相法により合成することで対応する誘導体 **10** および **11** を得た (Fig. 5)。合成した誘導体について破骨細胞を用いた活性評価を行った結果、興味深いことに MeAla-MeVal 間をアミド基に置き換えると完全に活性が消失するのに対し、MeVal-Ile 間を置き換えた場合には活性は低下するものの、望む形態変化を誘導できることが分かった。三次元構造解析の結果から分かるように、MeVal-Ile 間の *N*-メチルアミドは *trans*-アミドであることからアミド基へ置き換えても大きな構造変化を伴わないものと推測される。一方、MeAla-MeVal 間をアミド基とすると NMR スペクトルがブロードになったことから立体配座を維持できないことが示唆され、結果として生物活性が消失したものと考えられる。

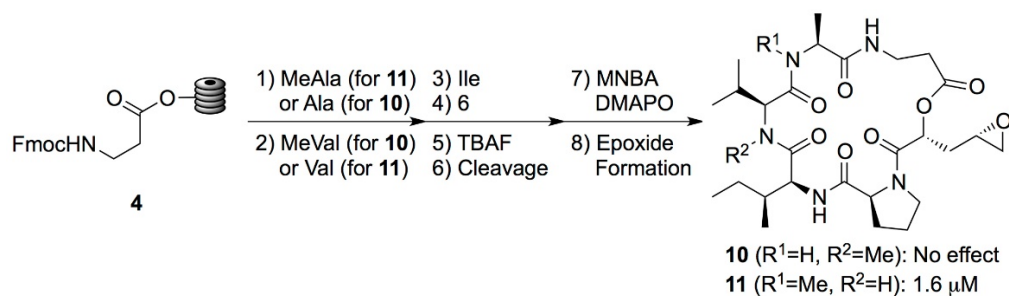


Fig. 5. 1) NOESY correlation of destruxin E (**1**); 2) 3D structure of **1**

以上の検討から、destruxin 類の生物活性発現にはエポキシドの空間配置のみならず、環状ペプチド構造の立体配座を安定化させる *cis*-アミドの存在が必須であることが明らかとなった。今後、この知見を基に分子プローブの創製を進め、破骨細胞内の標的分子を明らかにしたいと考えている。

### 共同研究者・謝辞

本研究を遂行するにあたり、有益なご助言を頂きました東北大学大学院薬学研究科の土井隆行教授、および生物活性評価においてご協力頂きました中部大学応用生物学部の中川大博士に深く御礼申し上げます。本稿を終えるにあたり、本研究を御支援いただきました上原記念生命科学財団に深く感謝申し上げます。

### 文 献

- 1) Yoshida M, Takeuchi H, Ishida Y, Yashiroda Y, Yoshida M, Takagi M, Shin-ya K, Doi T. Synthesis, Structure Determination, and Biological Evaluation of Destruxin E, *Org. Lett.* 2010;12(17):3792-95. doi:10.1021/ol101449x. PubMed PMID: 20672849.
- 2) Yoshida M, Sato H, Ishida Y, Nakagawa H, Doi T. Scalable Solution-Phase Synthesis of the Biologically Active Cyclodepsipeptide Destruxin E, a Potent Negative Regulator of Osteoclast Morphology, *J. Org. Chem.* 2014;79(1):296-306. doi:10.1021/jo402437z. PubMed PMID: 24251640.
- 3) Masuda Y, Suzuki J, Onda Y, Fujino Y, Yoshida M, Doi T. Total Synthesis and Conformational Analysis of Apratoxin C, *J. Org. Chem.* 2014;79(17):8000-9. doi:10.1021/jo501130b. PubMed PMID: 25093538.