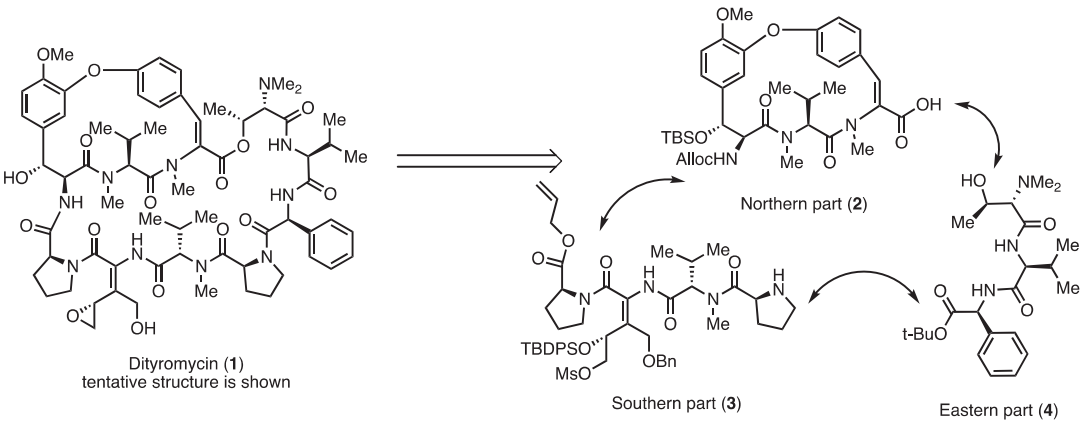
11　PPI阻害による抗嫌気性菌中分子の合成と創薬研究	砂塚　敏明

【目的】本研究の合成標的である Dityromycin（1）は、1977 年に北里研究所の大村らによって放線菌 *Streptomyces* sp. AM-2504 株より単離された中分子天然物である。構造的特徴として 1 は、イソジチロシン型環状トリペプチド構造とデヒドロイソロイシン酸化型異常アミノ酸を含む大環状デカデプシペプチドである。単離から 45 年が経過した現在もなお、本化合物の絶対立体構造の決定はなされていない。また、その生物活性として 1 は、偏性好気性、嫌気性菌に対し、70S リボソーム内 S12 タンパクと結合することで、翻訳伸長因子 EF-G とのタンパク質間相互作用（PPI）を阻害する 。そこで我々は 1 の新規 PPI 阻害剤としての開発を目指し、1 の誘導体創製を指向した全合成経路の確立および全合成的アプローチによる絶対立体構造の決定を行うこととした。

【方法】1 の全合成を目指すにあたって、のちの効率的な誘導体ライブラリー創製を可能とする収束的な逆合成を立案した（下図）。すなわち 1 を大きく 3 つのフラグメント、Northern part（2）、Southern part（3）、Eastern part（4）に分割し、それぞれの合成経路を確立し終盤にて結合させることによって全合成を目指すものである。これにより、構造、官能基変換を施した各々のフラグメントを組み合わせることによって多様な誘導体合成が迅速に実現できると考えた。

【結果】先に示した逆合成に従って、フラグメント 2、3、4 のグラムスケール合成にも許容な合成経路を確立し、各フラグメント 2、3、4 を大量合成し、全てを連結したデカペプチドの合成まで達成した。現在、我々は 6 における保護基の除去およびマクロ環化を行う検討を行なっており、残り数工程にて 1 の全合成を達成する予定である。

Dityromycin（1）の合成戦略



11. PPI 阻害による抗嫌気性菌中分子の合成と創薬研究

砂塚　敏明

北里大学 大村智記念研究所 生物有機化学研究室

Key words：中分子医薬，大村天然物，タンパク質間相互作用（PPI），全合成，ペプチド医薬

緒　言

近年、スクリーニング創薬における低分子医薬品は、微生物発酵培養法や有機合成化学の発展に伴って進歩を遂げてきたが、創薬標的の枯渇による難易度の高まりが指摘されており、減少傾向にある。その一方で高分子医薬品は標的疾患への選択性に優れる反面、製造費用や用途が細胞外標的に限られてしまうことが課題として挙げられる［1］。

そのような背景のもと、現在、新たな薬剤標的として注目を集めるのがタンパク質間相互作用（Protein-Protein Interaction：PPI)である。“インタラクトーム”と称される生体分子の相互作用は、タンパク質を起点とした相互作用であり、対応する分子によって①タンパク質間相互作用、②タンパク質–核酸相互作用、③タンパク質–小分子相互作用に大別される。インタラクトームの中でも、PPI は生体内のタンパク質分子間に起こる相互作用の総称であり、人体の信号系を構築する約 65 万の PPI は、恒常性を維持するネットワークを構築している。PPI の特徴としては、作用面の広さが挙げられ（1,500～3,000 Å）、従来の低分子医薬品とタンパク質の接触面積（300～1,000 Å）と比較すると、標的となり得る領域が非常に広く、多面的な標的認識が可能となり特異性が向上することがわかる［2］。しかしながら PPI は生体内において多数のタンパク質が関与し非常に複雑かつ動的に相互作用ネットワークを形成していることから解析が困難であるため、阻害剤の探索はいまだ容易とは言い難い。現在、PPI の研究論文数は増加を続けており、2016 年は 2,549 件であり 2000 年の件数の約 3 倍となっていることからも、次世代の薬剤標的としての開拓が期待される。

本研究の合成標的である Dityromycin（1）は、1977 年に北里研究所の大村らによって放線菌 *Streptomyces* sp. AM-2504 株より単離された中分子天然物である［3］。構造的特徴として 1 は、イソジチロシン型環状トリペプチド構造とデヒドロイソロイシン酸化型異常アミノ酸を含む大環状デカデプシペプチドである（図 1）［4］。単離から 45 年が経過した現在もなお、本化合物の絶対立体構造の決定はなされていない。また、その生物活性として 1 は、偏性好気性、嫌気性菌に対し、70S リボソーム内 S12 タンパクと結合することで、翻訳伸長因子 EF-G とのタンパク質間相互作用（PPI）を阻害する（図 2）［5］。そこで我々は 1 の新規 PPI 阻害剤としての開発を目指し、1 の誘導体創製を指向した全合成経路の確立および全合成的アプローチによる絶対立体構造の決定を行うこととした。

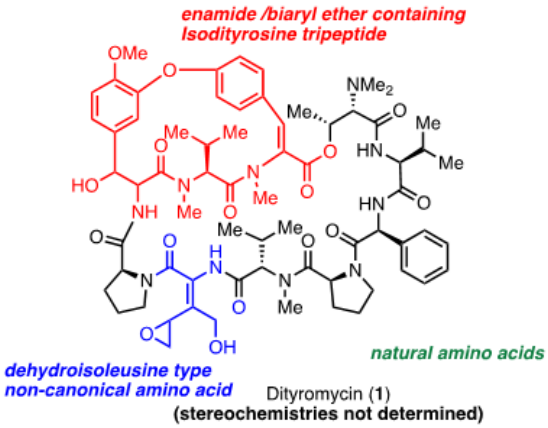


図 1. Dityromycin（1）の化学構造

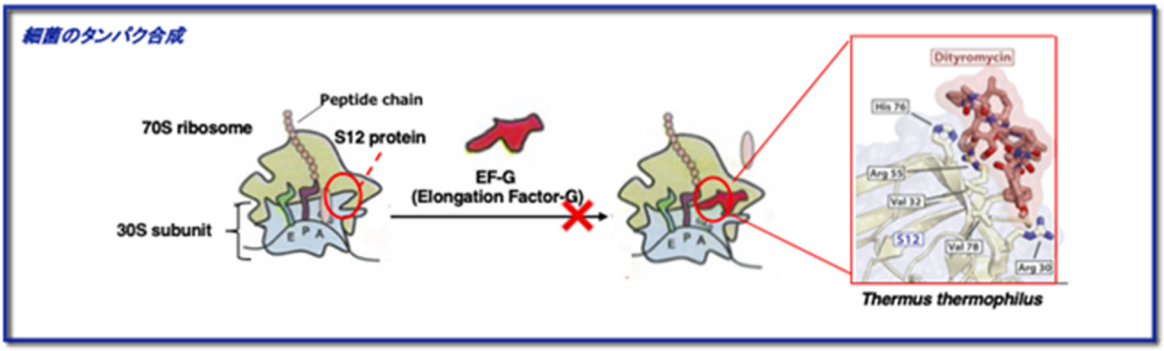
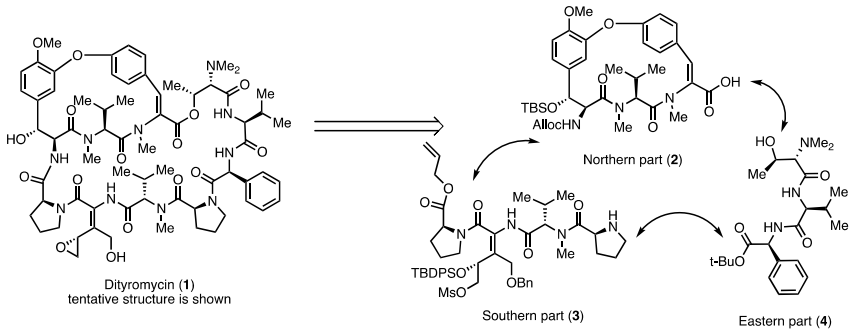


図 2. Dityromycin（1）と S12 タンパクの X 線共結晶構造図

方　法

1. 全合成的アプローチによる Dityromycin（1）合成手法の確立と絶対立体構造の決定

Dityromycin（1）の全合成を目指すにあたって我々は、のちの誘導化を効率的に行うことの出来る収束的な合成戦略を立案した。すなわち、1 を 3 つのフラグメント、Northern part（2）、Southern part（3）、Eastern part（4）に分割し、それぞれの合成経路を確立した上で、合成終盤にて縮合していくことで全合成を目指すというものである（Scheme1）。なお、はじめに Scheme1 に示した立体化学を有する 1 を合成標的として実験を開始した。これは、Steitz らによる X 線共結晶構造図においては電子密度が低いために断定は出来ないものの、天然物 1 が有する可能性の最も高い立体化学である。



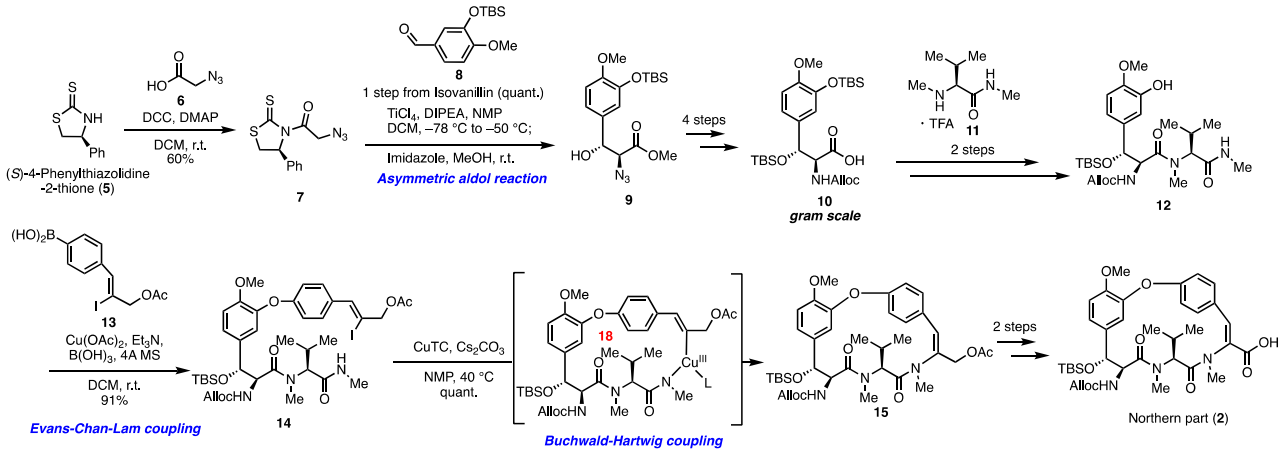
Scheme 1.　Dityromycin(1)の合成戦略

結果および考察

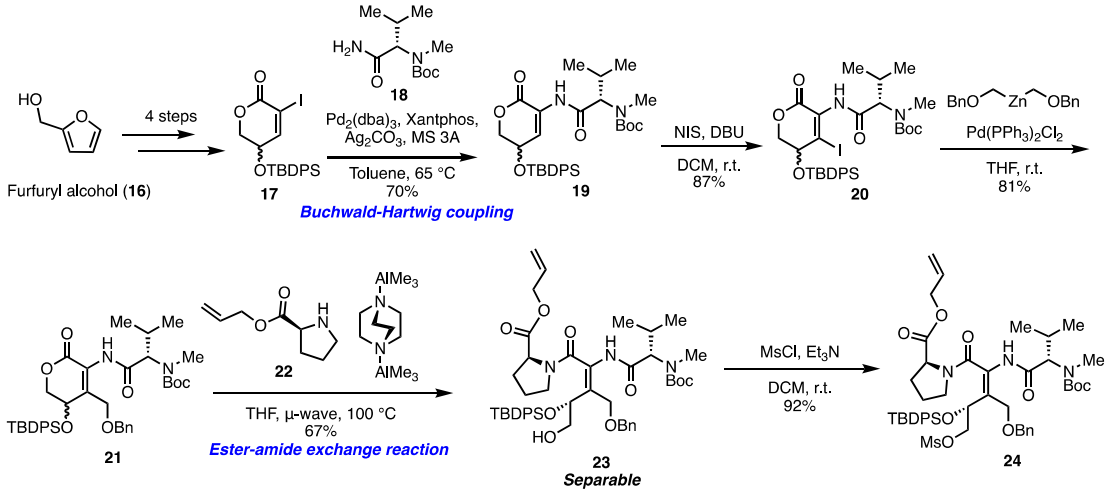
1. Dityromycin（1）の構成アミノ酸全てを有する Decapeptide 6 の合成経路の確立

はじめにフラグメント 2 の合成に関しては 5 を不斉補助基とした立体選択的な aldol 反応によって得た 9 を種々官能基変換に付すことで 10 を合成した。その後、12 へと変換し、別途調製した 13 との Evans-Chan-Lam カップリングによって 91%と良好な収率にてビアリールエーテル構造を構築した。続いて鍵となる Buchwald-Hartwig カップリングによる環化反応においては、CuTC を作用させることで定量的に 15 を与える条件を見出し、アリルアルコールを酸化することによって 2 の合成を達成した（Scheme2）。

一方で、3 に含まれるデヒドロイソロイシン酸化型異常アミノ酸部位の合成に関しては、市販品 16 より数工程の変換にて導いた 17 に対し 18 との Buchwald-Hartwig カップリングを試みた。種々反応条件を検討したところ目的の 19 を 70%の収率にて取得し、その後数工程の変換によって 21 を得た。そして 22 とのエステル-アミド交換においては、DABAL-Me_3を用いたマイクロ波照射条件にて 67%の収率にて 23 を得ることができ、更に、脱離基の導入と TBAF による処理によって 24 の合成を完了した（Scheme3）。

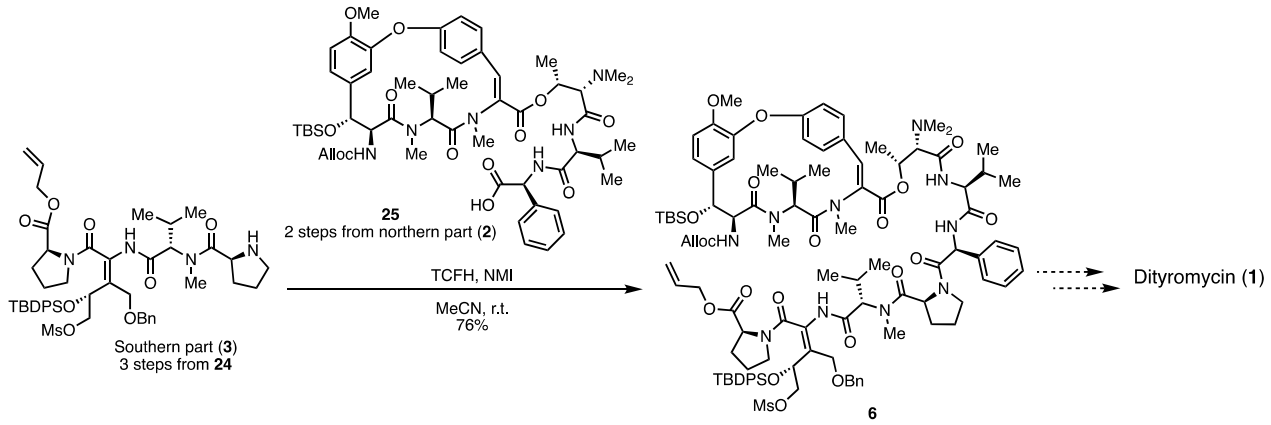


Scheme 2.　Northern part　(2) の合成



Scheme 3.　異常アミノ酸 24 の合成

そして先に取得した 2 と別途調製した 4 との縮合によって得た Hexapeptide25 と 24 から導いた 3 の縮合によって 1 の有するアミノ酸を全て備えた Decapeptide 6 の合成を達成した（Scheme4）。今後は、6 に対し保護基の除去およびマクロ環化反応の最適な条件を見出すことにより 1 の全合成を達成する予定である。



Scheme 4.　デカペプチド 6 の合成

文　献

1) 戸邊雅則, 創薬化学の側面から見た低分子医薬の将来像 低分子から中分子の広がり Research paper series, 2018, May 72.

2) Stumps M. P. H. Proc, Thomas Thorne, Eric de Silva, Ronald Stewart, Hyeong Jun An, Michael Lappe, Carsten Wiuf, Estimating the size of the human interactome. Natl Acad Sci U S A. 2008 May 13;105(19):6959-64. DOI: 10.1073/pnas.0708078105. Epub 2008 May 12.

3) S. Ōmura, Y. Iwai, A. Hirano, J. Awaya, Y. Suzuki, K. Matsumoto, A new antibiotic AM-2504. Agric. Biol. Chem. 1977 Jun 41; 9: 1827. DOI: https://doi.org/10.1271/bbb1961.41.1827

4) T. Teshima, M. Nishikawa, I. Kubota, T. Shiba, Y. Iwai, S. Ōmura. The structure of an antibiotic, dityromycin. Tetrahedron Lett. 1988 Feb 29;16, 1963-1966. DOI: https://doi.org/10.1016/S0040-4039(00)82090-0.

5) D. Bulkley, L. Brandi, Y. S. Polikanov, A. Fabbretti, M. O'Connor, C. O. Gualerzi, and T. A. Steitz. The antibiotics dityromycin and GE82832 bind protein S12 and block EF-G-catalyzed translocation. Cell Rep. 2014 Jan 30;6(2):357-65. DOI: 10.1016/j.celrep.2013.12.024. Epub 2014 Jan 9.