

論文内容要旨 (和文)

H28 年度入学 大学院博士後期課程

バイオ工学専攻 バイオ化学分野

氏 名 東海林由憲



論 文 題 目 抗HIV活性を有する海綿由来ペプチド類の合成研究

HIV ウイルスはヒト免疫細胞上に存在する膜蛋白質ケモカインレセプター CCR5を第二受容体に膜融合を起こし、細胞内に進入することが知られている。そのため、HIVウイルスとCCR5の相互作用を阻害するCCR5阻害剤はエイズの根本的治療薬になりうると考えられ、注目をあびている。CCR5阻害剤以外では、標的部位から3種類に分類されるが、いずれも細胞感染後のHIVウイルス増殖抑制剤でありその性質は大きく異なる。

Callipeltin A ならびに Homophymine B は海綿より単離された環状デプシペプチドであり、天然物としては非常に稀有なCCR5阻害能を持つことが報告されている。CCR5はヒト免疫細胞上に発現している膜タンパク質でHIVウイルスの第二受容体であり、CCR5阻害剤は抗HIV薬としての可能性を秘めている。しかし、Callipeltin A と Homophymine B は多くの異常アミノ酸と巨大なマクロラクトン構造を有する複雑な構造のため全合成例はなく、CCR5に対する活性部位も明らかになっていない。そこで新規CCR5阻害剤創成のため Callipeltin A ならびに Homophymine B に含まれる異常アミノ酸の合成並びにペプチドの組み立てに関する研究を行い、Callipeltin J および Q の全合成に適用した。

まず、デプシペプチド類を構成する3-MeGln、D-alloThr、AGDHE、HTH について様々な立体選択的な反応を駆使することで固相合成に適した誘導体として合成することに成功した。3-MeGln は浜理薬品株式会社と Soloshonok によって開発されたグリシンSchiff 塩基型のNi 錯体を用いることで効率的な合成ルートを確認した。D-alloThr も同様の錯体を用いた α 位の異性化反応により効率的な合成法を確認した。AGDHE の合成は福山還元、Z選択的ホーナーエモンズ反応、光延反応によるグアニジル化を組み合わせることで達成した。HTH はリパーゼによる出発原料のキラル化と Roush クロチル化反応を鍵反応に合成を行った。さらに申請者の研究室でその合成法が

確立された β -MeOTyr、*N*-メチルアミノ酸の調製も併せて行った。合成した異常アミノ酸を用いて Fmoc 固相合成法によって、まず Callipeltin J の合成を行なった。Fmoc-D-alloThr(tBu)-OH を DIPEA 条件下で樹脂に担持し、20% piperidine/DMF 溶液により Fmoc 基を除去した。次に、Fmoc-3-MeGln(Xan)-OH を DMF 中、PyBOP/HOBt/DIPEA の条件で縮合した。同様にしてアミノ酸のカップリングと脱保護を繰り返し、最後までペプチド鎖を伸長した。20% HFIP/CH₂Cl₂ により樹脂から切り出し、50% TFA/CH₂Cl₂ で側鎖保護基を除去することで Callipeltin J を微量ながら得ることができた。次に Callipeltin Q の合成を行なった。Fmoc-Pip-OH より同様にしてペプチド鎖を伸長した。20% HFIP/CH₂Cl₂ により樹脂から切り出し、50% TFA/CH₂Cl₂ で側鎖保護基を除去することで Callipeltin Q を粗ペプチドで得ることができた。

さらに Homophymine 類モデルペプチドの環化を検討した。通常の方法では立体障害が大きく不具合が生じたため、環化部位を一つずらし、アミド結合部位で環化し望む環状ペプチドへと導くことができた。

論文内容要旨 (英文)

H28年度入学 大学院博士後期課程

バイオ工学専攻 バイオ化学分野

氏 名 東海林由憲 

論 文 題 目 Synthetic study of marine natural peptides with anti HIV activity

The HIV virus enters intracellularly the membrane protein chemokine receptor CCR5 present on human immune cells into the second receptor. Therefore, CCR5 inhibitors that inhibit the interaction between HIV virus and CCR5 are thought to be a fundamental therapeutic agent for AIDS. Callipeltin A and homophymine B were isolated from marine sponge as cyclic depsi peptides showing CCR5 inhibitory activity, and various derivatives of these families have also been isolated. In order to investigate the essential motif of callipeltins for inhibitory activity, synthetic studies of callipeltins were carried out. In this thesis, stereoselective synthesis of unusual amino acids and fatty acid contained in callipeltins and homopymines and moreover the solid phase synthesis of callipeltins J and Q are described.

The unusual amino acids contained in callipeltins J and/or Q, β -MeOTyr, *N*-MeGln, D-alloThr, 3-MeGln, AGDHE, and HTH were efficiently synthesized. Fmoc- β -MeOTyr(OMEM)-OH and Fmoc-*N*-MeGln-OH were prepared by known method. Fmoc-D-alloThr(*t*Bu)-OH was obtained by (*S*) to (*R*) interconversion of L-Thr using Soloshonok ligand. Synthesis of Fmoc-3-MeGln(Xan)-OH was achieved by Michael addition reaction of the chiral glycine equivalent complex with allyl crotonate. Practical route for preparation of Fmoc-AGDHE(acetonide, Boc₃)-OH was developed with osmium-catalyzed dihydroxylation and Mitsunobu reaction. HTH was synthesized via chemoenzymatic desymmetrization and

Roush crotylboration as the key steps. The elongation of the peptide chains from the C-terminal amino acid using 2-chlorotolyl chloride resin could be performed under general coupling condition (PyBOP/HOBt/DIPEA) and Fmoc-deprotection (20% piperidine/DMF). The cleavage from the resin with HFIP and deprotection of the side chain protecting group by TFA gave crude callipeltins J and Q.

In addition, synthesis of cyclic homophymine derivative was succeeded via macrolactamization between D-Asp and Pip residues on the corresponding linear peptide.

学位論文の審査及び最終試験の結果の要旨

平成31年 2月 8日

理工学研究科長 殿

課程博士論文審査委員会

主査 今野 博行 印
 副査 佐藤 慎吾 印
 副査 山本 修 印
 副査 波多野 豊平 印
 副査 印

学位論文の審査及び最終試験の結果を下記のとおり報告します。

記

論文申請者	バイオ工学専攻・バイオ化学分野 氏名 東海林 由憲		
論文題目	抗 HIV 活性を有する海綿由来ペプチドの合成研究		
学位論文審査結果	合格	論文審査年月日	平成31年 1月 23日～ 平成31年 2月 1日
論文公聴会	平成31年 2月 1日	場 所	工学部3号館3-2307教室
最終試験結果	合格	最終試験年月日	平成31年 2月 1日

学位論文の審査結果の要旨 (1,000字程度)

海綿由来ペプチド類は様々な生物活性を有するものが多く存在し、その新奇な構造から医薬品リード化合物の候補として注目されている。本論文では抗 HIV 活性を有する異常アミノ酸含有ペプチド callipeltin 類に着目し、その効率的な合成ルートの開拓に主眼を置き研究を展開している。

第1章では研究の背景や異常アミノ酸含有ペプチド類に関する研究の動向について述べられている。特に過去の合成例について詳細に記載されており、本論文研究に着手するまでの道筋について議論している。第2章では、研究計画と実際の合成研究についてその詳細が述べられている。本研究では callipeltin J 並びに Q をその標的ペプチドに据え、それらを構成する異常アミノ酸 D-alloThr, 3-MeGln, AGDHE さらに HTH の合成研究を中心に述べている。いずれもペプチド固相合成法への適用を見据え活性官能基を適切に保護した状態で入手を行っている。D-alloThr, 3-MeGln の合成では BPB-ニッケルリガンドを用いたアミノ酸合成法を駆使し、過去の合成例を遥かに凌ぐ非常に効率的な合成法を確立した。次に AGDHE に取り組み、Fmoc-Glu(tBu)-OH を出発原料に用いて短工程合成を達成している。この方法論はアミノ酸とその保護基の特性を十分に理解し、立体化学の制御、骨格変換などを巧みに行なっている。本合成を拡張し類縁体である ADH の合成にも成功している。一方、callipeltin 類 N 末端に結合している光学活性脂肪酸の入手に関しては、生体触媒であるリパーゼを低温で利用するという発想を持ち、光学的に純粋なキラルジオールを得、そこから効率的な変換反応を駆使することで HTH を入手している。このようにして合成したアミノ酸類を用いて固相合成に展開し、callipeltin J 並びに Q へ導いている。さらに、立体障害の大きな環状デブシペプチドの合成を見据え、homophymine 類環状部をモデル化合物とした環状デブシペプチドの合成法確立にも成功している。すなわち、環化部位をデブシ結合ではなくアミド結合とするアイデアで合成困難なペプチドの合成を達成した。

以上の結果は今後のアミノ酸合成、ペプチド化学、さらには医薬品創製研究へ向けた大きな足がかりとなり、その応用が期待できるものと第3章で結論づけている。本研究の成果は、5報の学術論文(英文)に掲載され、当該専攻の審査基準を満たしている。以上より、博士(工学)の学位論文として価値と水準を十分に満たしており、合格と判断した。

本論文は、研究倫理又は利益相反等に係る学内規則に基づく手続きは必要ありません。

最終試験の結果の要旨

本学の規定に従い、主査及び副査3名が同席した学位論文に関する40分の口頭発表、ならびに30分の質疑応答を最終試験とした。研究の背景、目的、研究結果と考察に至るまでの内容について明確な説明を行った。そこから導き出された結論は合理的であり十分納得のいくものであった。また質疑応答では本論文に関する様々な質疑に対して的確で丁寧な回答を行った。以上のことから、博士(工学)として必要とされる専門知識および研究能力を十分に備えているものと判断し、最終試験を合格と判定した。