

令和元年5月24日現在

機関番号：10101
研究種目：若手研究(B)
研究期間：2017～2018
課題番号：17K15476
研究課題名(和文) タンパク質間相互作用を制御する新規フォルダマー型 ヘリックスミメティクスの創製

研究課題名(英文) Development of a new foldamer as a mimetic of alpha-helix

研究代表者
渡邊 瑞貴 (WATANABE, Mizuki)

北海道大学・薬学研究院・講師

研究者番号：20507173
交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：様々な立体化学の光学活性シクロプロパン-アミノ酸オリゴマーを設計し、マクロモデルを用いてそれらの最安定配座を計算したところ、特定の立体異性体のホモオリゴマーが、安定な右巻きヘリックスを形成することが期待された。実際にその光学活性シクロプロパン-アミノ酸モノマーを、光学活性グリシドールから不斉補助基を利用した立体選択的Grignard反応および不斉アルキル化を経て、18工程で合成した。種々の長さオリゴ化後、その立体構造のCD測定やNMR測定、およびX線結晶構造解析を行った。その結果、6量体以上のオリゴマーで、計算通りのらせん二次構造を形成していることが分かった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

タンパク質間相互作用の制御を狙ったペプチドミメティクスの開発研究は盛んになされているものの、普遍的な方法論といえるものが確立されているわけではない。本研究は、様々なタンパク質間相互作用に適用可能な一般性の高い新規ペプチドミメティクス開発方法論を提示・実践するものである。本研究の成果は、タンパク質間相互作用を標的としたペプチドミメティクス創薬の新たな基盤として発展する可能性を秘める。

研究成果の概要(英文)：I designed of optically active cyclopropane- α -amino acid oligomers with various stereochemistries and calculated their most stable conformation using MacroModel. As a result, a homo-oligomers of specific stereoisomer of an optically active cyclopropane- α -amino acid form stable, right-handed helix. Then, I synthesized the optically active cyclopropane- α -amino acid monomer from the optically active glycidol via a stereoselective Grignard reaction and an asymmetric alkylation using asymmetric auxiliary groups in 18 steps. After oligomerization to various lengths, CD measurement, NMR measurement, and X-ray crystal structure analysis of the three-dimensional structure were performed. As a result, it was found that a hexameric or higher oligomer forms a helical secondary structure as calculated.

研究分野：創薬化学

キーワード：ペプチドミメティクス 配座制御 フォルダマー

様式 C-19、F-19-1、Z-19、CK-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

タンパク質間相互作用は、生体の恒常性維持において重要な様々な役割を担う。特定のタンパク質間相互作用を制御できる分子は、生物医学研究のツールや新たな医薬品シーズとなりうる。実際に、タンパク質間相互作用を阻害するバイオ医薬品(例:抗体)が臨床応用されている。しかし、高コスト、免疫毒性、また、標的が細胞膜表面に限定的といった課題も残っており、より低コストで細胞内外のタンパク質間相互作用を制御可能な合成分子が求められている。

タンパク質間相互作用の接着面の多くは比較的広く浅い(800-2,000 Å²)ものの、タンパク質間相互作用は接着面全体での一様な結合ではなく、比較的密集した一部のアミノ酸残基群(hot-spot)によって形成される結合に大きく依存することが近年わかってきた。Hot-spotの多くは、タンパク質構造のヘリックスの一つの面に存在するアミノ酸側鎖(i, i+3/4, i+7番目)である。この側鎖の空間配置を巧みに模倣した分子ならばhot-spot エリアと効果的に結合でき、タンパク質間相互作用を制御可能だと考えられる。

この考えに基づき、架橋によりヘリックス構造を安定化したペプチド(ステーブルペプチド)がタンパク質間相互作用を阻害するヘリックスミメティクスとして報告されている(Wilson, J.A. et al. *Nat. Chem.* 2013 など)。しかしその分子設計において、結合標的との立体障害を避けつつヘリックス構造を安定化できる架橋構造の位置・長さなどの検討が常に必要であり、普遍的な方法論にはなりえていない。また、らせんなどの特定の二次構造をとる人工オリゴマー分子(フォルダマー)が、タンパク質の二次構造を模倣できるため、タンパク質間相互作用を制御可能な分子として注目されている。現在までに多様な骨格のフォルダマーが開発されているが、その配座自由度の高さ故か、 α -アミノ酸を基盤にしたフォルダマーの報告例はない。

2. 研究の目的

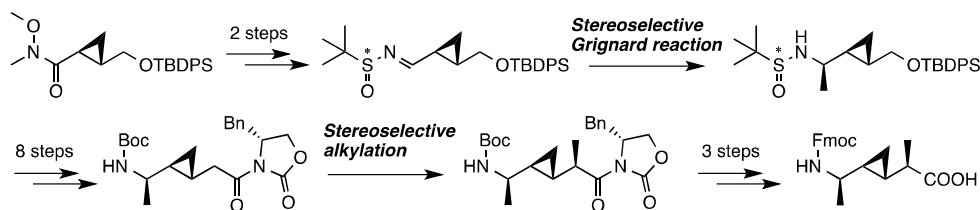
本研究は、一般的な創薬方法論となりえる新たなヘリックスペプチドミメティクスを提案・創製することを目的に、まず、ヘリックス構造のフォルダマーになると予測される、過去に報告例のないシクロプロパン α -アミノ酸オリゴマーを合成し、実際の立体構造を解析する。

3. 研究の方法

私は、シクロプロパン歪みを利用して配座を制御した α -アミノ酸を基本ユニットとして連結させれば、側鎖の空間配置も含めたヘリックスの三次元構造を精密に模倣したペプチドミメティクスになると考えた。そこで、アミノ酸側鎖に相当する置換基としてメチル基をもつ種々の立体化学のシクロプロパン α -アミノ酸のペンタマーをモデル分子として設計し、分子モデリング計算で安定配座を求めた。その結果、特定の立体化学のシクロプロパン α -アミノ酸からなるオリゴマーは非常に安定な右巻きヘリックス構造をとり、i, i+4, i+7番目の側鎖に相当するメチル基の配向が、ヘリックスの同一面で一定間隔に制御されたフォルダマーとなった。最安定配座のポテンシャルエネルギーから少なくとも5 kcal/mol 以内の配座は、全て同様のフォルダマーであった。そこで、モデル化合物として側鎖にメチル基を有した光学活性 α -アミノ γ -シクロプロパンカルボン酸を合成し、オリゴマー化することとした。

4. 研究成果

光学活性シクロプロパン α -アミノ酸モノマーを、光学活性グリシドールから合成した。鍵は、シクロプロパンを含む四連続不斉中心の構築であった。光学活性な二置換シクロプロパンアルデヒドを合成したのち、tert-スルフィニルイミンへと変換し、立体選択的Grignard反応によって一つ目のメチル基を導入した。さらに構造変換を進め、不斉補助基としてオキサゾリジノンを利用した不斉アルキル化反応によって二つ目のメチル基を導入した。さらに官能基変換を行い、N-Fmoc型光学活性シクロプロパン α -アミノ酸モノマーを合成することに成功した(スキーム1)。



スキーム1. 光学活性シクロプロパン α -アミノ酸の合成経路の概略

合成したモノマーを、液相条件で2, 4, 6, 8merのオリゴマーへと変換した。これら合成したオリゴマーの立体構造情報を、CD測定、NMR測定、およびX線結晶構造解析によって解析した。その結果、6量体以上のオリゴマーで、計算した通りのらせん二次構造を形成しているこ

とが判明した。この成果は、 α -アミノ酸を基本ユニットとした初めてのフォルダマー構造体の創出となる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 8 件)

Minami, T.; Fukuda, K.; Hoshiya, N.; Fukuda, H.; Watanabe, M.; Shuto, S. "Synthesis of enantiomerically pure 1,2,3-trisubstituted cyclopropane nucleosides using Pd-catalyzed substitution via directing group-mediated C(sp³)-H activation as a key step". **Organic Letters**, 21, 656-659 (2019) DOI:10.1021/acs.orglett.8b03785 査読有り

Watanabe, M.; Kobayashi, T.; Ito, Y.; Fukuda, H.; Yamada, S.; Arisawa, M.; Shuto, S. "Design and Synthesis of Histamine H3/H4 Receptor Ligands with a Cyclopropane Scaffold". **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 28, 3630-3633 (2018) DOI: 10.1016/j.bmcl.2018.10.041 査読有り

Suemasa, A.; Watanabe, M.; Kobayashi, T.; Suzuki, H.; Fukuda, H.; Minami, M.; Shuto, S. "Design and synthesis of cyclopropane-based conformationally restricted GABA analogues as selective inhibitors for betaine/GABA transporter 1". **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, 28, 3395-3599 (2018) DOI:10.1016/j.bmcl.2018.08.031 査読有り

Unno, Y.; Sato, Y.; Fukuda, H.; Ishimura, K.; Ikeda, H.; Watanabe, M.; Tansho-N, S.; Ubagai, T.; Shuto, S.; Ono, Y. "Resolvin E1 promotes fMLF-induced ROS generation in human neutrophils, but Resolvins E2 and E3 do not". **FEBS Letters**, 592, 2706-2715 (2018) DOI: 10.1002/1873-3468.13215 査読有り

Kanada, R.; Tanabe, M.; Muromoto, R.; Sato, Y.; Kuwahara, T.; Fukuda, H.; Arisawa, M.; Matsuda, T.; Watanabe, M. and Shuto, S. "Synthesis of chiral cis-cyclopropane bearing indole and chromone as potential TNF inhibitors". **Journal of Organic Chemistry**, 83, 7672-7682 (2018). DOI: 10.1021/acs.joc.8b00466 査読有り

Yatsuzuka, K.; Sato, S.; Pe, K. B.; Katsuda, Y.; Takashima, I.; Watanabe, M.; Uesugi, M. "Live-Cell Imaging of Multiple Endogenous mRNAs Permits Direct Observation of RNA Granule Dynamics". **Chem. Commun.**, 54, 7151-7154 (2018). DOI:10.1039/C8CC03805H 査読有り

Takano, S.; Tsuzuki, T.; Murayama, T.; Kameda, T.; Kumaki, Y.; Sakurai, T.; Fukuda, H.; Watanabe, M.; Arisawa, M.; Shuto, S. "Synthesis of 8-Substituted Analogues of Cyclic ADP-4-Thioribose and Their Unexpected Identification as Ca²⁺-Mobilizing Full Agonists". **Journal of Medicinal Chemistry**, 60, 5868-5875 (2017) DOI:10.1021/acs.jmedchem.7b00540 査読有り

Mizuno, A.; Kameda, T.; Kuwahara, T.; Endoh, H.; Ito, Y.; Yamada, S.; Hasegawa, K.; Yamano, A.; Watanabe, M.; Arisawa, M.; Shuto, S. "Cyclopropane-based peptidomimetics mimicking wide-ranging secondary structures of peptides: Conformational analysis and their use in rational ligand optimization". **Chemistry-A European Journal**, 23, 3159-3168 (2017) DOI:10.1002/chem.201605312 査読有り

〔学会発表〕(計 24 件)

桑原智希、水野彰、竹内恒、広川貴次、浅井章良、渡邊瑞貴、周東智、スピロシクロプロパン型 ヘリックス・ストランドミメティクスに基づく p53/MDM2 結合阻害剤の創製、日本薬学会第 139 年会、2019 年

杉山洸、一ノ瀬亘、広川貴次、渡邊瑞貴、周東智、環状ペプチド低分子化方法論の確立を目指した三次元多様型シクロプロパンペプチドミメティスの開発研究、日本薬学会第 139 年会、2019 年

村上侑斗、福田隼、石村航平、平島洸基、室本竜太、渡邊瑞貴、松田正、周東智、炎症収束脂質レゾルピン E2 のスキップジエン構造をベンゼン環で置換した安定等価体創製研究、日本薬学会第 139 年会、2019 年

Mizuki Watanabe, Yukina Sato, Mai Uemura, Nanami Kato, Kouhei Matsui, Hayato Fukuda, Yoh Takekuma, Mitsuru Sugawara, Satoshi Shuto "Improvement of Membrane Permeability of Cyclic Peptides By Conformational Restriction Using Cyclopropane" The 24th Peptide Forum in Kyoto, 2018、2018 年

Mizuki Watanabe, Yukina Sato, Mai Uemura, Nanami Kato, Kouhei Matsui, Hayato Fukuda, Yoh Takekuma, Mitsuru Sugawara, Satoshi Shuto "Improvement of Membrane Permeability of Cyclic Peptides By Conformational Restriction Using Cyclopropane" 10th International Peptide Symposium(第 55 回ペプチド討論会) 2018 年

Mizuki Watanabe, Mai Uemura, Yukina Sato, Nanami Kato, Yoh Takekuma, Mitsuru Sugawara, Koh Takeuchi, Satoshi Shuto "Conformationally Restricted Cyclic Peptides Based on

- the Structural Properties of Cyclopropane” 8th Peptide Engineering Meeting (PEM8-2018) 2018 年
- 佐藤晋平, 福田隼, 渡邊瑞貴, 周東智, サイトトリエニン A の合成研究、第 44 回反応と合成の進歩シンポジウム、2018 年
- 南貴覚, 福多洸太郎, 星谷尚亨, 福田隼, 渡邊瑞貴, 周東智, Pd 触媒を用いた C(sp³)-H 活性化反応を鍵段階とする光学活性 1,2,3-三置換シクロプロパンヌクレオシドの合成、第 44 回反応と合成の進歩シンポジウム、2018 年
- Shimpei Sato, Hayato Fukuda, Mizuki Watanabe, Satoshi Shuto “Synthetic Study of Cytotrienin A” 7th EuCheMS Chemistry Congress, 2018 年
- 渡邊瑞貴, ペプチドの"形"を制御して"機能"を変える、第 50 回若手ペプチド夏の勉強会(招待講演) 2018 年
- 佐藤晋平, 福田隼, 渡邊瑞貴, 周東智, サイトトリエニン A の合成研究、第 30 回万有札幌シンポジウム、2018 年
- 渡邊瑞貴, 森川優輝, 大浦泰, 福田隼, 森田貴雄, 谷村明彦, 周東智, アデノホスチン A をリードとした IP3 検出プローブの創出、日本ケミカルバイオロジー学会 第 13 回年会、2018 年
- 永田真, 桑原智希, 一ノ瀬亘, 渡邊瑞貴, 周東智, シクロプロパン -アミノ酸を基盤とした新規フォルダマーの創製研究、日本薬学会北海道支部第 145 回例会、2018 年
- 植村真衣, 加藤七海, 松井耕平, 桑原智希, 渡邊瑞貴, 福田隼, 竹内恒, 広川貴次, 武隈洋, 菅原 満, 周東 智, シクロプロパンの構造特性に基づく膜透過性環状ペプチドの設計と合成、日本薬学会第 138 年会、2018 年
- 山田 圭恭, 一ノ瀬 亘, 福田 隼, 渡邊 瑞貴, 周東智, trans-1, 2-シクロプロパンジアミンおよびジカルボン酸からなるオリゴアミドの合成研究、日本薬学会第 138 年会、2018 年
- 末政亮大, 中田和彰, 小林高明, 福田隼, 渡邊瑞貴, 井手聡一郎, 人羅菜津子, 南雅文, 周東智, GABA トランスポーターサブタイプ選択的阻害剤の創出を目的とする GABA 配座制限誘導体の設計と合成、日本薬学会第 138 年会、2018 年
- 渡邊瑞貴, 配座制御を基盤とした機能性ペプチドの開発、若手研究者のための有機化学札幌セミナー、2017 年
- 桑原智希, 植村真衣, 水野彰, 一ノ瀬亘, 松井耕平, 福田隼, 渡邊瑞貴, 周東智, シクロプロパンの立体及び立体電子特性に基づくペプチドミメティクス ヘリックス/ ストランドミメティクス及び膜透過ミメティクスの開発、第 43 回反応と合成の進歩シンポジウム、2017 年
- 山田真輝, 金田龍太郎, 高木耕治, 福田隼, 渡邊瑞貴, 周東智, 1-アルキル-3-デアザアデニン環の構築を鍵とした 3-デアザ-cADPr の合成、第 47 回複素環化学討論会、2017 年
- Mizuki Watanabe “Development of Conformationally Restricted Peptides and Peptidomimetics Based on the Structural Features of Cyclopropane” The 3rd HU-TMU-KU Joint Symposium for Pharmaceutical Sciences, 2017 年
- 21 Tomoki Kuwahara, Akira Mizuno, Hayato Fukuda, Mizuki Watanabe, Satoshi Shuto “Spiro-cyclopropane type -helix/ -strand mimimetics targeting protein-protein interactions” 254th ACS National Meeting & Exposition, 2017 年
- 22 南貴覚, 福多洸太郎, 星谷尚亨, 福田隼, 渡邊瑞貴, 周東智, 光学活性 1,2,3-三置換シクロプロパンヌクレオシドの合成、第 29 回万有札幌シンポジウム、2017 年
- 23 石村航平, 室本竜太, 平島洸基, 福田隼, 渡邊瑞貴, 松田正, 周東智, 炎症収束性脂質レゾルビン E1 配座制限誘導体の設計と合成、第 15 回次世代を担う有機化学シンポジウム、2017 年
- 24 山田真輝, 金田龍太郎, 高木耕治 福田隼, 渡邊瑞貴, 周東智, cADPR 安定アンタゴニストの創製を目指した 1-アルキル-3-デアザアデニン骨格の合成、第 64 回北海道薬学大会(薬学会北海道支部第 144 回例会) 2017 年

6 . 研究組織

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。