

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 3 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25460009

研究課題名(和文) 短いペプチドオリゴマーを用いた、水中での強固な規則構造の構築と制御

研究課題名(英文) Generation of stable regular structure in water with short peptide oligomers

研究代表者

尾谷 優子 (Otani, Yuko)

東京大学・大学院薬学系研究科・講師

研究者番号：60451853

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,000,000円

研究成果の概要(和文)：アミノ酸を連結したペプチドオリゴマーは、その構造の柔軟性や周囲の溶媒との水素結合により、安定な規則構造をとりにくいことが多い。ゆえに環境に依存しない、高度に制御された構造を予測の通りに作り出すことは重要な課題である。

本課題では、コンホメーションを制御したプロリン型  $\beta$ -アミノ酸のオリゴマーを合成し、アミド結合のシス-トランス平衡をトランスアミドに完全に偏らせた、堅牢なトランスアミド体ヘリックス構造の創製を行った。本構造は溶媒や温度に関わらず安定であった。また、置換基を導入したオリゴマーのアミド結合の異性化平衡に関する基礎的な検討を行った。

研究成果の概要(英文)：Regular structures of peptide oligomers are often destabilized due to their flexibility and hydrogen bonding with solvents. Thus it is of importance to create regular structures which are stabilized independent of the environments.

In this study, we established the synthetic route of conformationally-constrained proline-type  $\beta$ -amino acid, whose amide cis-trans equilibrium is completely tipped to the trans conformation. It is shown that the homooligomers take robust helical structure with all-trans-amide bonds, which is stable irrespective of the solvent and the temperature. Also, basic study on amide cis-trans isomerization of substituted oligomers was performed.

研究分野：有機化学

キーワード：ヘリックス 非天然アミノ酸 オリゴマー コンホメーション 計算科学 有機合成

### 1. 研究開始当初の背景

アミノ酸を連結したオリゴマーは、その構造の柔軟性や周囲の溶媒との水素結合により、安定なヘリックス構造など規則構造をとりにくいことが多い。環境に依存しない、高度に制御された構造を予測の通りに作り出すことは困難な課題である。特に、 $\alpha$ -アミノ酸を構造単位とするペプチドオリゴマー ( $\alpha$ -ペプチド) は、 $\alpha$ -ペプチドとの構造類似性や生体内での代謝安定性から医薬やペプチドの構造制御分子としての応用が期待されている。よって本課題では、短鎖オリゴマーによる、水素結合による安定化を利用しない、水中での強固な規則構造の構築を目的の1つとした。すでに申請者らは二環性骨格を持つ7-アザビシクロ[2.2.1]ヘプタン骨格をもつ非水素結合性プロリン型  $\beta$ -アミノ酸を報告しているが、アミドのシス-トランス異性を制御しにくいという問題があった。そこで、本骨格に特徴的である橋頭位に置換基を導入したアミノ酸ホモオリゴマーの合成を達成し、これが水中で最小単位である2量体から8量体まで安定なシスアミドヘリックス構造を選択的に取ることを示した(引用文献1)。本アミドでは橋頭位への一つの置換基導入によりアミド平衡が完全にシスアミド体に制御できた。しかしながら、ヘリックスの1巻きに要する原子数や全体の長さなど、ヘリックス構造の詳細については明らかにされていなかった。

### 2. 研究の目的

プロリン型の二環性  $\beta$ -アミノ酸を用いた機能物質創製のための構造化学の基礎および応用研究を行うことを目的とした。具体的には、(1) アミド結合のシス-トランス平衡をトランスアミドに偏らせた、堅牢なトランスアミド体ヘリックス構造の創製を行う。(2) 閉環メタセシス反応を利用してシスアミド体ヘリックスを架橋することにより、ヘリックスの詳細構造を調査する。(3) 本  $\beta$ -アミ

ノ酸はその特異な構造のため、天然に存在するものとは異なるヘリックス構造を誘起する。異なるタンパク質間の相互作用は情報伝達やタンパク質の反応活性に影響するが、相互作用にはヘリックス構造の認識が重要であるという報告がある。人工アミノ酸ヘリックスが天然のタンパク質によって認識されるかを調査する。(4) 本研究の原点となった、橋頭位に置換基を持たず、シス-トランス平衡が制御されていない二環性  $\beta$ -アミノ酸オリゴマーは円二色性(CD)スペクトルから鎖長依存的な構造誘起が示唆されていた。この現象について、計算化学的に解明する。

### 3. 研究の方法

(1) については、シスアミド型アミノ酸とは逆の橋頭位に置換基を導入した二環性  $\beta$ -アミノ酸をデザインし、アミノ酸のエナンチオマーを区別した合成法の開発を行った。同じ立体配置を持つアミノ酸を2量体から8量体まで連結させたホモオリゴマーを合成した。短いオリゴマーについては単結晶の創製に成功し、X線結晶構造解析を行った。溶液中の構造については、核磁気共鳴(NMR)、CDスペクトルの測定を行った。(2) については、シスアミド体をとる  $\beta$ -アミノ酸残基の橋頭位に、環化に必要な官能基(アルケン)を有する側鎖を結合させ、ルテニウム触媒を用いた閉環メタセシス反応により、側鎖同士を結んで環化した。(3) 各種二環性アミノ酸ペプチドオリゴマーについて、細胞のがん化に関係するタンパク質間相互作用の阻害活性を調べた。(4) 分子動力学計算を用い、単量体アミドから5量体オリゴマーについて、様々な構造を発生させ、安定な構造を調査した。

### 4. 研究成果

(1) 堅牢なトランスアミド体ヘリックス構造の創製  
構造解析の結果、橋頭位置換基の立体効果に

より全てのアミド結合がトランス体をとっており、伸びたヘリックス構造が安定に存在することを明らかにした。天然に存在する-プロリンペプチドは、シスアミドからなるヘリックスとトランスアミドからなるヘリックスが平衡で存在し、その安定性は溶媒によって変換する。しかし、本ヘリックス構造は溶媒や温度にかかわらず安定であった。

#### (2) 閉環メタセシス反応を用いたシスアミド体ヘリックスの詳細構造の決定

シスアミド体のみを取る二環性 $\beta$ -アミノ酸の2量体モデル化合物について、隣接残基の側鎖同士を閉環メタセシス反応により架橋した分子を合成したところ、意外なことにトランスアミド体が観測された。これは、架橋によりもともと不安定なトランス体が相対的に安定化されたためと考えられる。そこで、当初の目的であったヘリックス構造の解明より先に、2量体架橋体について架橋側鎖の長さのアミド平衡およびアミド結合回転障壁との関係を調べることにした。架橋側鎖が短いほど、トランス体が多く観測された。アミド結合の回転速度をNMRで求めたところ、架橋が短いほど回転速度が大きくなることが分かった。

(3) 二環性 $\beta$ -アミノ酸オリゴマーについて、タンパク質-タンパク質相互作用の阻害活性を評価したところ、活性のある化合物が得られた。今後は活性を向上させると同時に、相互作用機構についても検討したい。

#### (4) 二環性オリゴマーの鎖長依存的な構造誘起の計算化学的解明

橋頭位に置換基を持たない二環性オリゴマーは、アミドのシス-トランス平衡混合物として存在する。規則構造化の可能性について調査するため、2量体から5量体までのMDシミュレーションを行ったところ、オリゴマーが長くなるにつれてトランスアミド体を多く含むコンホマーの存在比が高くなり、伸びたヘリックス構造をとりやすくなる傾向

が示唆された。

(引用文献1) Water-stable Helical Structure of Tertiary Amides of Bicyclic  $\beta$ -Amino Acid Bearing 7-Azabicyclo[2.2.1]heptane. Full Control of Amide Cis-Trans Equilibrium by Bridgehead Substitution.

Masahiro Hosoya, Yuko Otani, Masatoshi Kawahata, Kentaro Yamaguchi, Tomohiko Ohwada.

*Journal of the American Chemical Society*, **2010**, *132*, 14780.

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計9件)

(1) Hydrogen Bonding to Carbonyl Oxygen of Nitrogen-Pyramidalized Amide-Detection of Pyramidalization Direction Preference by Vibrational Circular Dichroism Spectroscopy.

Siyuan Wang, Tohru Taniguchi, Kenji Monde, Masatoshi Kawahata, Kentaro Yamaguchi, Yuko Otani, Tomohiko Ohwada.

*Chemical Communications* **2016**, *52*, 4018-4021. 査読有 DOI: 10.1039/C6CC00284F

(2) Tandem Buildup of Complexity of Aromatic Molecules Through Multiple Successive Electrophile Generation in One Pot, Controlled by Varying the Reaction Temperature.

Akinari Sumita, Yuko Otani, Tomohiko Ohwada. *Organic & Biomolecular Chemistry* **2016**, *14*,

1680-1693. 査読有 DOI: 10.1039/C5OB02240A

(3) Structure-Activity Relationships of Lysophosphatidylserine Analogs as Agonists of G-Protein-Coupled Receptors GPR34, P2Y10, and GPR174.

Masaya Ikubo, Asuka Inoue, Sho Nakamura,

Sejin Jung, Misa Sayama, Yuko Otani, 他 10 名  
*Journal of Medicinal Chemistry* **2015**, 58,  
4204-4219. 査読有 DOI: 10.1021/jm5020082

(4) Lysophosphatidylserine analogues differentially activate three LysoPS receptors. Akiharu Uwamizu, Asuka Inoue, Kensuke Suzuki, Michiyo Okudaira, Akira Shuto, Yuji Shinjo, Jun Ishiguro, Kumiko Makide, Masaya Ikubo, Sho Nakamura, Sejin Jung, Misa Sayama, Yuko Otani, Tomohiko Ohwada, and Junken Aoki  
*Journal of Biochemistry* **2015**, 157, 151-160. 査読有 DOI: 10.1093/jb/mvu060

(5) Acid-promoted Chemoselective Introduction of Amide Functionality onto Aromatic Compounds Mediated by Isocyanate Cation Generated from Carbamate. Akinari Sumita, Hiroaki Kurouchi, Yuko Otani, Tomohiko Ohwada  
*Chemistry - An Asian Journal*, **2014**, 9, 2995-3004. 査読有 DOI: 10.1002/asia.201402625

(6) Robust Trans-Amide Helical Structure of Oligomers of Bicyclic Mimics of beta-Proline: Impact of Positional Switching of Bridgehead Substituent on Amide Cis-Trans Equilibrium. Siyuan Wang, Yuko Otani (corresponding author), Xin Liu, Masatoshi Kawahata, Kentaro Yamaguchi, Tomohiko Ohwada  
*The Journal of Organic Chemistry*, **2014**, 79, 5287-5300. 査読有 DOI: 10.1021/jo500916j

(7) Protonation Switching to Least Basic Heteroatom of Carbamate through Cationic Hydrogen Bonding Promotes Formation of Isocyanate Cation. Hiroaki Kurouchi, Akinari Sumita, Yuko Otani, Tomohiko Ohwada  
*Chemistry - A European Journal*, **2014**, 20, 8682-8690. 査読有 DOI: 10.1002/chem.201402447

(8) Trans-nitrosylation directs TRPA1 selectivity in N-nitrosamine activators  
Daisuke Kozai, Yoji Kabasawa, Maximilian Ebert, Shigeki Kiyonaka, Firman, Yuko Otani, Tomohiro Numata, Nobuaki Takahashi, Yasuo Mori, Tomohiko Ohwada  
*Molecular Pharmacology*, **2014**, 85, 175-185. 査読有 DOI:10.1124/mol.113.08886

(9) Enantiodivergent Deprotonation-Acylation of  $\alpha$ -Amino Nitriles.  
Michiko Sasaki, Tomo Takegawa, Kunihiro Sakamoto, Yuri Kotomori, Yuko Otani (corresponding author), Tomohiko Ohwada, Masatoshi Kawahata, Kentaro Yamaguchi, Kei Takeda  
*Angewandte Chemie International Edition*, **2013**, 52, 12956-12960. 査読有 DOI: 10.1002/anie.201306443

〔学会発表〕(計 47 件)

- 1) 尾谷 優子、プロリン型人工アミノ酸ペプチドの規則構造化における置換基効果の計算科学的検討、日本薬学会第 136 年会パシフィコ横浜 (神奈川県・横浜市) 2016 年 3 月 28 日 一般口頭発表
- 2) 尾谷優子、プロリン型の非天然アミノ酸の柔らかいアミド結合に基づいた規則構造制御、日本化学会第 96 春季年会 同志社大学 (京都府・京田辺市) 2016 年 3 月 24 日 中長期企画講演 (招待講演)
- 3) 尾谷優子、二環性 -プロリンオリゴマーによる剛直なトランスアミドヘリックスの創製と規則構造化の評価、第 40 回反応と合成の進歩シンポジウム 東北大学 (宮城県・仙台市) 2014 年 11 月 11 日 口頭発表

その他 44 件

〔その他〕

ホームページ等  
研究室のホームページ

( <http://www.f.u-tokyo.ac.jp/~yakka/> ) に研究  
成果を公表している。

## 6 . 研究組織

### (1) 研究代表者

尾谷 優子 (Yuko Otani)

東京大学・大学院薬学系研究科・講師

研究者番号：60451853