

令和元年6月6日現在

機関番号：17301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K18847

研究課題名(和文)コンフォメーション制御と分子認識を基盤とした架橋ペプチド触媒の創製

研究課題名(英文)Development of stapled peptide catalysts based on restriction of conformational freedom and molecular recognition

研究代表者

上田 篤志 (UEDA, Atsushi)

長崎大学・医歯薬学総合研究科(薬学系)・助教

研究者番号：10732315

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文):側鎖架橋を有する新規環状 β -ジ置換アミノ酸の合成をおこなった。これらのペプチド中への導入は容易におこなわれ、閉環メタセシス反応により側鎖が架橋されたペプチド触媒を合成した。得られたペプチドを不斉有機分子触媒として用いて、 α,β -不飽和カルボニル化合物に対する各種求核剤の立体選択的1,4-付加反応を試みたところ最高99% eeの高い立体選択性で付加体を得ることに成功した。またペプチドの二次構造解析をおこなったところ、結晶状態では α -ヘリックス構造を形成していることが判明した。さらにマイケル付加反応の生成物を利用した、2,4,5-三置換テトラヒドロピラン環の立体選択的新規構築法にも成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ペプチドは生体内においても重要な役割を担っており、機能性分子として働くことが知られている。このような生理活性ペプチドの多くは一定の二次構造をとることから、コンフォメーションを制御したペプチドの合成は必須となってくる。今回の成果ではコンフォメーションを制御したペプチドを不斉有機分子触媒として機能性の評価をおこなったが、今後は生理活性ペプチド等への展開も期待される。

研究成果の概要(英文):Stapled peptide possessing carbocyclic β , γ -disubstituted α -amino acids was synthesized by standard solution-phase synthesis followed by ring-closing metathesis reaction. Conformational freedom-restricted peptides were used as an asymmetric organocatalyst for Michael addition of nitroalkanes and dialkyl malonates to α,β -unsaturated ketone, and high enantioselectivities were observed with broad substrate scope. X-ray crystallographic analysis of the peptide showed α -helical structure. Stereoselective synthesis of 2,4,5-trisubstituted tetrahydropyran was also demonstrated.

研究分野：化学系薬学

キーワード：アミノ酸 ペプチド 二次構造

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

天然の L-アミノ酸よりなるペプチドは、コンフォメーションの自由度が大きいため、通常そのままでは機能を発現することが難しい。このことは特に短い残基数からなるペプチドでは顕著になる傾向が見られるため、コンフォメーションを制御することが必要になってくる。その手法として幾つかの手段が存在するが、側鎖架橋に関する研究は近年国内外で精力的に行われている。例えば Verdine らは α -メチル- γ -ペンテニルグリシンを用いて、ヘリカル構造の安定化されたオールハイドロカーボンスターブルペプチドの開発に成功している。その他にもジスルフィド結合やラクタム結合等を側鎖架橋構造に用いる手法が報告されている。他方、コンフォメーションを制御する別の手段として L-アミノ酸の β -位水素をアルキル基で置換した、 β -置換アミノ酸の利用が知られている。

2. 研究の目的

本研究では側鎖架橋と β -置換アミノ酸の二つのアプローチを利用し、コンフォメーションを制御したペプチドの不斉有機分子触媒としての応用を目的として研究を行った。具体的には環状の β -置換アミノ酸の側鎖上に架橋部位を有するものを合成し、ペプチド中に導入したのち側鎖架橋を形成させることとした。さらに不斉有機分子触媒反応で得られた生成物のさらなる化学変換も検討することとした。

3. 研究の方法

上記目的を達成する上で鍵となる、側鎖架橋を有する新規環状 β -置換アミノ酸の合成をおこなう。その原料としては容易に入手可能な L-リンゴ酸を用いる。次に、合成した新規環状 β -置換アミノ酸のペプチド中への導入と架橋形成反応をおこなう。架橋形成反応は Grubbs 触媒による閉環メタセシス反応を利用する。次にペプチドを不斉有機分子触媒として用いて、 β -不飽和カルボニル化合物に対する各種求核剤の立体選択的 1,4-付加反応を試みる。使用したペプチドに関しては構造解析をおこなうことで、反応機構の解明の一助とする。さらにマイケル付加反応の生成物を利用した、2,4,5-三置換テトラヒドロピラン環の立体選択的な新規構築法の開発もおこなう。

4. 研究成果

・側鎖架橋を有する環状 β -置換アミノ酸の合成：まず L-リンゴ酸から 4 工程でジヨウ素化体を得たのち、これをマロン酸と反応させることで 5 員環骨格を構築した(図 1)。続くエステル部位の加水分解、Curtius 転位後にベンジルアルコールを添加することで Cbz 保護体とし、MOM 基を脱保護し、最後にカラムで分割することによって 2 種の新規環状 β -置換アミノ酸の合成をすることができた。これらは側鎖水酸基をアリル化することで、側鎖架橋に必要な二重結合部位を導入することができた。

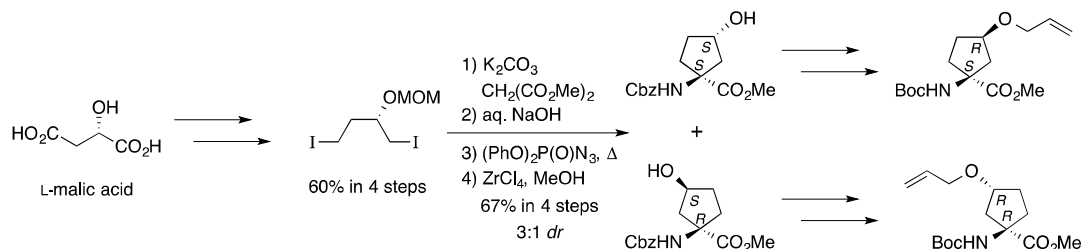


図 1. 新規環状 β -置換アミノ酸の合成

・環状 β -置換アミノ酸のペプチド中への導入と架橋形成反応：続いて合成した新規環状 β -置換アミノ酸のロイシンペプチド配列への導入をおこなった(図 2)。縮合剤には EDCI/HOBt を用いて、 β -置換アミノ酸とロイシントリペプチドを交互に縮合させることで架橋前駆体であるオクタペプチドを合成した。最後に閉環メタセシス反応は第 2 世代 Grubbs 触媒を利用することで円滑に進行し、所望の架橋ペプチドを、 β -置換アミノ酸から 8 工程収率 25%で得ることに成功した。また、 β -置換アミノ酸上の立体化学が架橋形成速度に大きな影響を与えることも見出した。

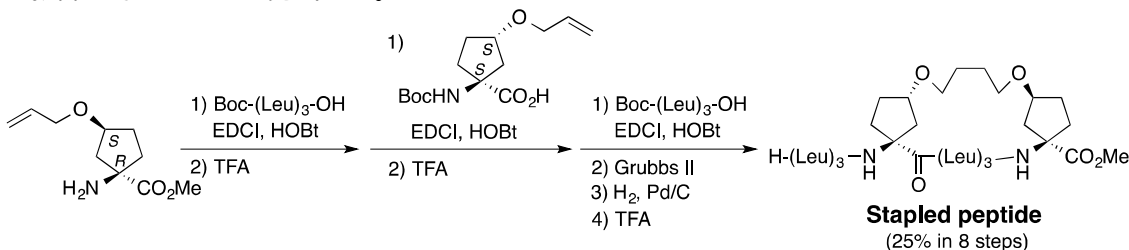


図 2. 架橋ペプチドの合成

・ペプチドを不斉有機分子触媒として用いる， α -不飽和カルボニル化合物に対する立体選択的 1,4-付加反応：合成した架橋前後のペプチドをニトロメタンの， α -不飽和カルボニル化合物に対する不斉 1,4-付加反応の触媒として用いたところ、架橋前後で大きな差が見られなかった（図 3）。一方で、別途合成した側鎖にキラルなメトキシ基を有する触媒や N 末端にトリプトファンを有する触媒が高い立体選択性をもたらしたため、この触媒を用いてさらなる基質適用範囲の検討をおこなった。

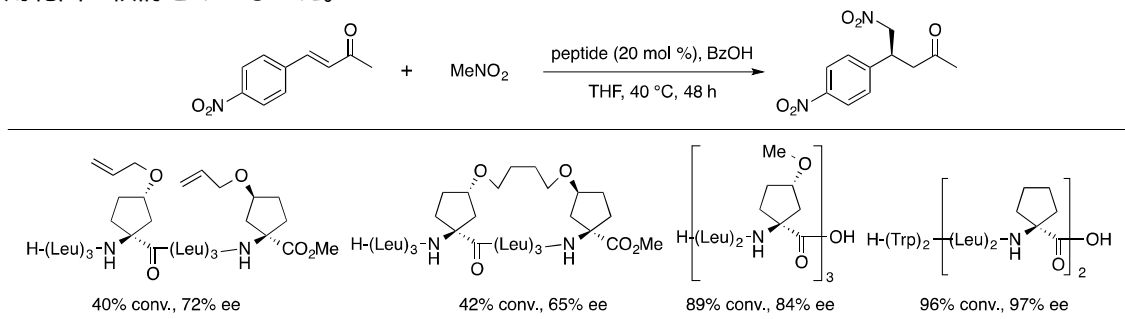


図 3 . ペプチド触媒の検討

ペプチド H-(L-Trp)₂-[(L-Leu)₂-Ac₅C]₂-OMe を用いて種々のマイケルアクセプターとの不斉触媒反応をおこなったところ、最高で 99% ee といずれも高いエナンチオ選択性で目的の付加体を与えることができた（図 4）。さらに本触媒はマロン酸ジエステルをマイケルドナーとして用いることができ、こちらも 89-98% ee の高い選択性で目的物を与えた。

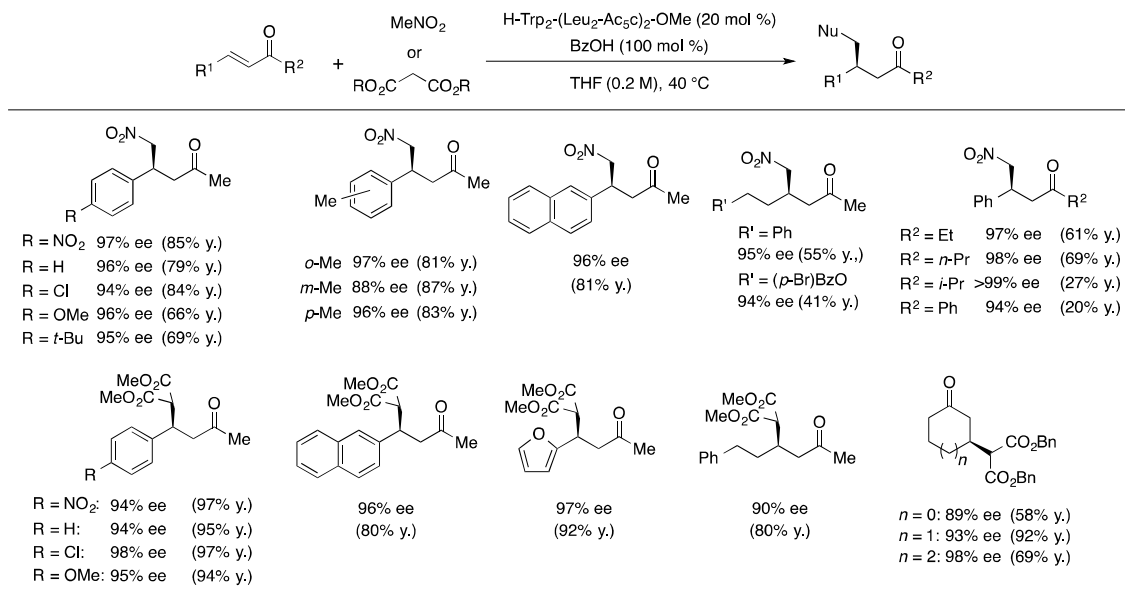


図 4 . ペプチド触媒の検討

・ペプチド触媒の二次構造解析：先のペプチド触媒反応で最も高い選択性を与えた H-(L-Trp)₂-[(L-Leu)₂-Ac₅C]₂-OMe に関して、二次構造解析をおこなった。まず溶液状態では NOESY スペクトルの解析結果からヘリカル構造を形成していることが示唆された。一方 X 線結晶構造解析の結果、結晶状態では β -ヘリカル構造を形成していることが明らかとなった（図 5）。このことは、これまでに得られた知見とも合致しており、ペプチド触媒反応における高い立体選択性は本ペプチドの β -ヘリカル構造によってもたらされたものと示唆された。

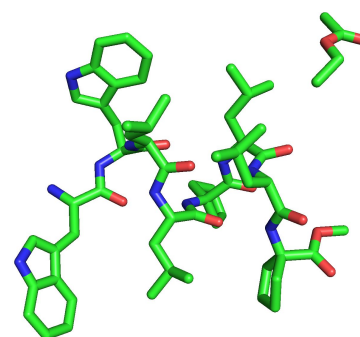


図 5 . ペプチドの X 線結晶構造解析

・ペプチド触媒反応を利用した 2,4,5-三置換テトラヒドロピラン環の立体選択的新規構築法の開発：ペプチド触媒反応で得られた化合物の合成的利用への展開として、2,4,5-三置換テトラヒドロピラン環への立体選択的変換法を開発した。テトラヒドロピラン環は様々な生物活性天然有機化合物に見られる重要骨格である。今回合成した 2,4,5-三置換体は初めての立体選択的合成例であり、今後この骨格の機能について興味が持たれる。まず， α -不飽和カルボニル

化合物に対するマロン酸ジエステルの立体選択的 1,4-付加反応で得られた付加体を、ネオペンチルグリコールで保護し、エステル部位を水素化リチウムアルミニウムで還元し環化前駆体のジオールとした。このプロキラルなジオールを岸らの還元的環化条件に付すことで新たに二つの不斉中心を高立体選択的に構築することに成功した。本環化反応は合わせて 8 種の基質に適用可能であることを確認している。

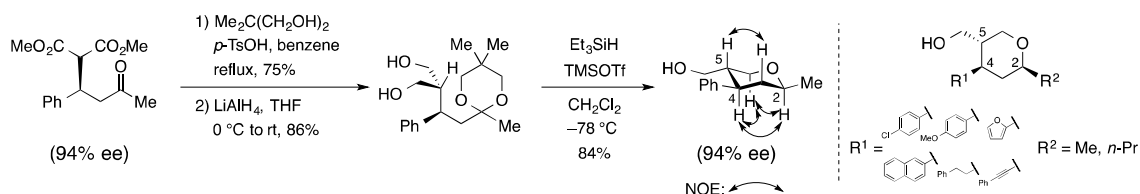


図 6. 2,4,5-三置換テトラヒドロピラン環の立体選択的構築

コンフォメーションを制御したペプチドは様々な基質に対して不斉有機分子触媒として働くことが示され、今後さらなる機能性分子としての展開が期待される。

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 10 件)

Atsushi Ueda, Mei Higuchi, Tomohiro Umeno, Masakazu Tanaka, *Enantioselective synthesis of 2,4,5-trisubstituted tetrahydropyrans via peptide-catalyzed Michael addition followed by Kishi's reductive cyclization. Heterocycles*, **99**, 989-1002 (2019); (査読あり). DOI: 10.3987/COM-18-S(F)63.

Yurie Koba, Atsushi Ueda, Makoto Oba, Mitsunobu Doi, Takuma Kato, Yosuke Demizu, Masakazu Tanaka, *Left-Handed Helix of Three-Membered Ring Amino Acid Homopeptide Interrupted by an N-H...Ethereal O Type Hydrogen Bond. Org. Lett.*, **20**, 7830-7834 (2018); (査読あり). DOI: 10.1021/acs.orglett.8b03331.

Masakazu Tanaka, Haruka Yakabi, Haruki Nakatani, Atsushi Ueda, Mitsunobu Doi, Makoto Oba, *Helical structures of cyclopentene-based α,α -disubstituted α -amino acid homopeptides. Chimia*, **72**, 848-852 (2018); (査読あり). DOI: 10.2533/chimia.2018.848.

Atsushi Ueda, Yuri Nishimura, Yui Makura, Masakazu Tanaka, Jun'ichi Uenishi, *β -Selective D-psicofuranosylation of pyrimidine bases and thiols. Heterocycles*, **97**, 729-743 (2018); (査読あり). DOI: 10.3987/COM-18-S(T)42.

Ryo Eto, Makoto Oba, Atsushi Ueda, Tsubasa Uku, Mitsunobu Doi, Yosuke Matsuo, Takashi Tanaka, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Masakazu Tanaka, *Diastereomeric right- and left-handed helical structures with fourteen (R)-Chiral Centers. Chem.-Eur. J.*, **23**, 18120-18124 (2017); (査読あり). DOI: 10.1002/chem.201705306.

Yurie Koba, Atsushi Ueda, Makoto Oba, Mitsunobu Doi, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Masakazu Tanaka, *Helical L-Leu-based peptides having chiral five-membered carbocyclic ring amino acids with an ethylene acetal moiety. ChemistrySelect*, **2**, 8108-8114 (2017); (査読あり). DOI: 10.1002/slct.201700832.

Makoto Oba, Masayuki Kunitake, Takuma Kato, Atsushi Ueda, Masakazu Tanaka, *Enhanced and prolonged cell-penetrating abilities of arginine-rich peptides by introducing cyclic α,α -disubstituted α -amino acids with stapling. Bioconjugate Chem.*, **28**, 1801-1806 (2017); (査読あり). DOI: 10.1021/acs.bioconjchem.7b00190.

Atsushi Ueda, Makoto Oba, Yuki Izumi, Yasuhiro Sueyoshi, Mitsunobu Doi, Yosuke Demizu, Masaaki Kurihara, Masakazu Tanaka, *Helical structures of homo-chiral isotope-labeled α -aminoisobutyric acid peptides. Tetrahedron*, **72**, 5864-5871 (2016); (査読あり). DOI: 10.1016/j.tet.2016.08.011.

Atsushi Ueda, Tomohiro Umeno, Mitsunobu Doi, Kengo Akagawa, Kazuaki Kudo, Masakazu Tanaka, *Helical peptide-catalyzed enantioselective Michael addition reactions and their mechanistic insights. J. Org. Chem.*, **81**, 6343-6356 (2016); (査読あり). DOI: 10.1021/acs.joc.6b00982.

Tomohiro Umeno, Atsushi Ueda, Makoto Oba, Mitsunobu Doi, Takayuki Hirata, Hiroshi Suemune, Masakazu Tanaka, *Helical structures of L-Leu-based peptides having chiral six-membered ring amino acids. Tetrahedron*, **72**, 3124-3131 (2016); (査読あり). DOI: 10.1016/j.tet.2016.04.040.

[学会発表](計 39 件)

上田 篤志, 樋口 明、平山 和浩、松本 卓、土井 光暢、田中 正一: 側鎖架橋構造を導入したペプチドの二次構造解析と有機分子触媒としての応用、日本薬学会第 138 年会、金沢、2018 年 3 月。

梅野 智大、上田 篤志、田中 正一：ペプチドフォールドマーを触媒とする環状エノンの不斉マイケル付加反応、日本薬学会第 138 年会、金沢、2018 年 3 月。

松本 卓、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：(-)-メントン由来のジ置換アミノ酸の合成とその含有ペプチドのコンフォメーション研究、第 34 回日本薬学会九州支部大会、熊本、2017 年 11 月。

Suguru Matsumoto, Atsushi Ueda, Mitsunobu Doi, Masakazu Tanaka: Conformational studies on peptides having α,α -disubstituted α -amino acids with (-)-menthyl skeleton. 第 54 回ペプチド討論会、大阪、2017 年 11 月。

Tomohiro Umeno, Atsushi Ueda, Mitsunobu Doi, Masakazu Tanaka: Asymmetric Michael addition reactions catalyzed by α,α -disubstituted α -amino acid-containing helical peptides. *The 254th American Chemical Society National Meeting & Exposition*; Washington, DC, USA, 2017 年 8 月。

Kazuhiro Hirayama, Atsushi Ueda, Mitsunobu Doi, Masakazu Tanaka: Synthesis and conformational analyses of stapled peptides derived from allyl-tethered carbocyclic α,α -disubstituted α -amino acids. *The 254th American Chemical Society National Meeting & Exposition*; Washington, DC, USA, 2017 年 8 月。

Atsushi Ueda, Suguru Matsumoto, Mitsunobu Doi, Masakazu Tanaka: Synthesis and conformational analyses of peptides having α,α -disubstituted α -amino acids with (-)-menthyl skeleton. *The 254th American Chemical Society National Meeting & Exposition*; Washington, DC, USA, 2017 年 8 月。

梅野 智大、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一： α,α -ジ置換アミノ酸含有ヘリカルオリゴペプチドを触媒とする不斉触媒反応、第 49 回若手ペプチド夏の勉強会、長崎、2017 年 8 月。

樋口 明、上田 篤志、田中 正一：N 末配座自由度を制限したヘリカルペプチドの合成と有機分子触媒としての応用、第 54 回化学関連支部合同九州大会、北九州、2017 年 7 月。

松本 卓、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：(-)-メンチル骨格を有するジ置換アミノ酸含有ペプチドの合成と二次構造解析、第 54 回化学関連支部合同九州大会、北九州、2017 年 7 月。

梅野 智大、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：安定なヘリカル二次構造を有するペプチド触媒を利用した不斉マイケル付加反応、第 27 回万有福岡シンポジウム、福岡、2017 年 6 月。

梅野 智大、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：ペプチドフォールドマーによる不斉マイケル付加反応、第 15 回次世代を担う有機化学シンポジウム、東京、2017 年 5 月。

梅野 智大、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：-ヘリカルペプチド触媒を用いた不斉共役付加反応、日本薬学会第 137 年会、仙台、2017 年 3 月。

上田 篤志、平山 和浩、土井 光暢、田中 正一：ヘリカル二次構造を制御した側鎖架橋型環状ジ置換アミノ酸含有ペプチドの合成、日本薬学会第 137 年会、仙台、2017 年 3 月。

平山 和浩、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：環状ジ置換アミノ酸を用いたステーブルペプチドの構造解析と有機分子触媒としての応用、第 33 回日本薬学会九州支部大会、鹿児島、2016 年 12 月 4 日。

梅野 智大、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：ヘリカルペプチド触媒による不斉 1,4-付加反応とその活性化メカニズムに関する研究、第 9 回有機触媒シンポジウム、名古屋、2016 年 12 月。

上田 篤志、梅野 智大、土井 光暢、田中 正一：コンフォメーション制御したヘリカルペプチドの開発と有機分子触媒としての応用、第 42 回反応と合成の進歩シンポジウム、静岡、2016 年 11 月。

Kazuhiro Hirayama, Atsushi Ueda, Mitsunobu Doi, Masakazu Tanaka: Synthesis of peptides having four-membered ring amino acids with a cross-linkage unit and their conformational studies. 第 53 回ペプチド討論会、京都、2016 年 10 月。

平山 和浩、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：4 員環状ジ置換アミノ酸を架橋ユニットとするペプチドの合成と二次構造解析、第 28 回若手研究者のためのセミナー、福岡、2016 年 8 月。

平山 和浩、上田 篤志、土井 光暢、田中 正一：架橋部位を持つ 4 員環状ジ置換アミノ酸含有ペプチドの合成と二次構造解析、第 53 回化学関連支部合同九州大会、北九州、2016 年 7 月。

その他 19 件

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.ph.nagasaki-u.ac.jp/lab/biomimic/index-j.html>

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。