

令和 5 年 6 月 12 日現在

機関番号：82401

研究種目：若手研究

研究期間：2020～2022

課題番号：20K15968

研究課題名（和文）ペプチドを用いた触媒活性制御機構の開発

研究課題名（英文）Development of catalytic activity regulation system using affinity peptides

研究代表者

六車 共平（Muguruma, Kyohei）

国立研究開発法人理化学研究所・開拓研究本部・基礎科学特別研究員

研究者番号：60753621

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）：本研究では、ルテニウム触媒を用いた触媒活性制御システムを開発した。合成したルテニウム触媒は、標的分子の存在下で触媒活性の向上を示し、特定条件下での選択的な触媒の活性化に成功した。この触媒システムは、生体内において部位選択的にプロドラッグを活性化することができ、副作用の少ない医薬品へと応用することが期待できる。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、遷移金属触媒の触媒活性のON/OFFを切り替えるシステムを構築した。本研究で開発した形式で、触媒活性が変化する触媒は前例がなく、全く新しい触媒システムである。また、触媒活性のON/OFFを制御することで、血中では不活性であるのに対し、標的部位で活性化しプロドラッグを薬物へと変換できるため、医薬へと応用できる基盤技術である。

研究成果の概要（英文）：In this study, a catalytic activity regulation system with a ruthenium catalyst was developed. The synthesized catalyst showed a higher catalytic activity in the presence of target molecule. This catalytic system would be applicable to the site-selective activation of prodrug, resulting in the potent medicine with less adverse effects.

研究分野：医薬品化学

キーワード：ルテニウム 触媒 ペプチド アルブミン

1. 研究開始当初の背景

白金製剤(シスプラチン)や金製剤(オーリスタチン)など、遷移金属を含む医薬品は古くから利用されている。近年では、パラジウムやルテニウムなどの遷移金属元素を含む医薬品の臨床試験が進められており、海外では承認を受けて使われ始めている医薬品もある¹⁾。しかし、これらの医薬品の作用メカニズムはDNAを架橋することで抗がん作用を示すもの(図1a)や、光増感剤として作用するもの(図1b)である。多くの有機化学者がイメージする遷移金属の医薬品としての触媒的な利用(図1c)というものは、発展途上であり、新たな創薬モダリティとして展開できる可能性を有している。

生体内で遷移金属を触媒的に利用し、プロドラッグを活性化することにより、疾患治療へと展開することができる。しかし、常に高い活性を示す触媒を用いた場合、様々な部位でプロドラッグを活性化本体へと変換してしまい、副作用の危険性を高める結果となる。そのため、生体内で遷移金属触媒を利用するには、触媒活性がOFFの状態での体内を循環し、標的部位において選択的に活性化させる触媒機構が理想的である。また、このような触媒機構により触媒を安定に標的部位へと送達できれば、投与量を減らすことができ、触媒自体の毒性発現の抑制にもつながると期待できる。

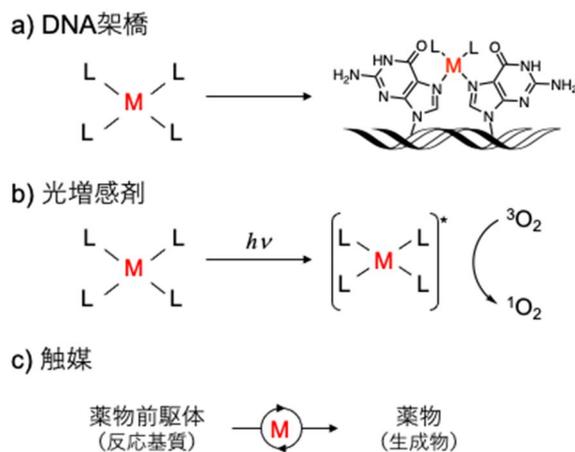


図1. 遷移金属含有医薬品の作用メカニズム

2. 研究の目的

本研究課題では、遷移金属触媒を用いた疾患治療法の価値を高める基盤技術として、生体内で利用可能な遷移金属触媒の活性制御機構の開発を目的とする。実現に向け、(1)触媒の設計(2)触媒の合成および機能評価を実施し、特定の条件下で触媒活性が向上する遷移金属触媒の創出を行なった。

3. 研究の方法

(1) 触媒の設計

本研究では、アリルオキシカルボニル(Alloc)基の脱保護反応を触媒するルテニウム触媒(図2a)を利用し、触媒活性のON/OFFを切り替えられる触媒システムの構築を行なった。当初は、金属触媒の配位子が入れ替わることで、触媒活性が変化することを利用した活性制御機構を設計していたが、合成が難航していた。一方で、所属研究室が利用しているアルブミンと金属触媒の複合体(人工金属酵素, Artificial Metalloenzyme, ArM)^{2,3)}において、新たな知見が得られ(図2a-b)⁴⁾、このアルブミン複合体の触媒システムを利用することとした。

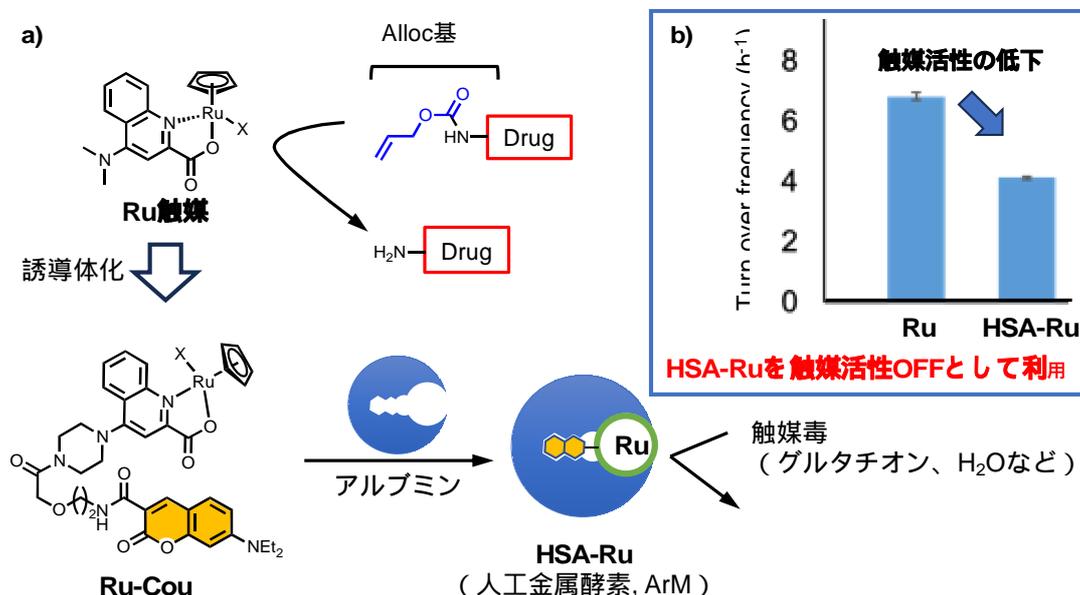


図2. a) アルブミンを用いた人工金属酵素と b) 触媒活性。

(2)触媒の合成と機能評価

Fmoc-ペプチド合成法および液相での有機合成を駆使し、複数のリガンド構造を持つルテニウム触媒誘導体を合成した。導入したリガンドの標的分子への結合能を表面プラズモン共鳴法および蛍光強度の変化により評価した。触媒活性の評価では、化学合成した Alloc 保護された反応基質を利用し、HPLC にて解析した。また、ルテニウム触媒によって活性化する抗がん剤のプロドラッグ体も合成し、標的分子を発現した細胞を用いた抗がん活性評価を実施している。

4. 研究成果

(1)触媒の設計

所属研究室では、遷移金属触媒をアルブミンの疎水性ポケットへと結合させ、ArM を形成することにより、生体内安定性が向上することを報告している(図 2a)²⁻⁴⁾。ルテニウム触媒も同様にアルブミンと複合体を形成させたところ、触媒活性の低下がみられることを明らかとした(図 2b)。触媒活性が低下するアルブミン複合体は触媒 OFF の状態であると見なすことができ、触媒活性が ON となるシステムを組み込むことで、触媒活性のコントロールが達成できるものと考えた。このアルブミン-ルテニウム触媒複合体の性質について、研究成果として *Chem. Sci.* 誌に筆頭著者として報告している⁴⁾。本研究では、触媒に親和性ペプチド構造⁵⁾を導入し、ペプチドが標的分子に結合した時に触媒活性が向上する触媒設計とした。

(2)触媒の合成と機能評価

親和性ペプチドとルテニウム触媒の架橋体(合計9種類)を10段階の反応により合成した。表面プラズモン共鳴法により、親和性を評価したところ、アルブミンおよび標的分子に対して良好な結合能を示した(図 3a, $K_d = 130 \text{ nM}$)。ルテニウム触媒 ペプチド間のリンカー鎖長により結合能が変化することを明らかとし、最適リンカー鎖をε-アミノカプロン酸に決定した。

合成したルテニウム触媒の触媒活性を評価したところ、ルテニウム触媒架橋体はアルブミンに結合することで触媒活性が低下したが、標的分子の存在下において、その触媒活性が回復した。8種類の反応基質に対する触媒活性を評価したところ、触媒活性の上がり幅は異なるものの、触媒活性が最大で4.6倍向上する結果が得られた(図 3b)。この結果より、遷移金属触媒の医薬応用への基盤となる触媒活性制御機構を開発することに成功した。

また、抗がん剤のプロドラッグ体(3種類)の合成が済んでいる。これらプロドラッグ体とルテニウム触媒による細胞系および担がんマウスを用いた動物系での抗がん活性評価を引き続き実施している。

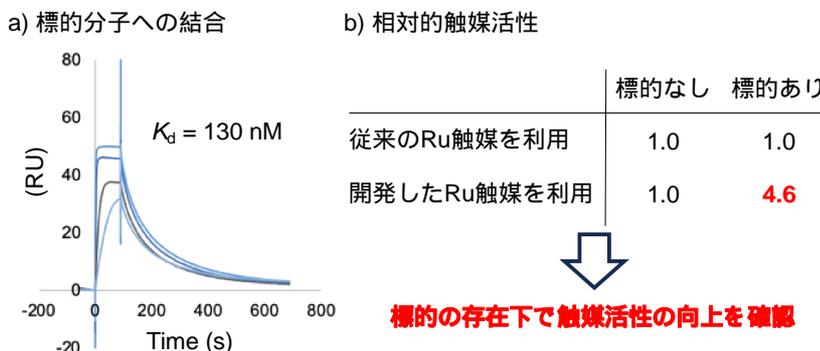


図 3. a) 合成した触媒の標的分子への結合能評価と、b) 相対的な触媒活性(各 Ru 触媒の「標的なし」条件を 1.0 とする)

以上のように、ルテニウム触媒に新たなリガンド構造を導入することにより、標的分子の存在下において触媒活性が向上する新しい触媒活性制御機構を構築することに成功した。現在、さらなる評価を継続中であり、今後、遷移金属触媒の医薬応用の助けになると期待している。

<引用文献>

1. E. J. Anthony, E. M. Bolitho, H. E. Bridgewater, O. W. L. Carter, J. M. Donnelly, C. Imberti, E. C. Lant, F. Lemyte, R. J. Needham, M. Palau, P. J. Sadler, H. Shi, F. X. Wang, W. Y. Zhang, Z. Zhang, *Chem. Sci.*, **11**, 12888 (2020).
2. S. Eda, I. Nasibullin, K. Vong, N. Kudo, M. Yoshida, A. Kurbangaliev, K. Tanaka, *Nature Catal.*, **2**, 780 (2019).
3. I. Nasibullin, I. Smirnov, P. Ahmadi, K. Vong, A. Kurbangaliev, K. Tanaka, *Nat. Commun.*, **13**, 39 (2022).
4. P. Ahmadi, K. Muguruma, T. C. Chang, S. Tamura, K. Tsubokura, Y. Egawa, T. Suzuki, N. Dohmae, Y. Nakao, K. Tanaka, *Chem. Sci.*, **12**, 12266 (2021).
5. K. Muguruma, K. Fujita, A. Fukuda, S. Kishimoto, S. Sakamoto, R. Arima, M. Ito, M. Kawasaki, S. Nakano, S. Ito, K. Shimizu, A. Taguchi, K. Takayama, A. Taniguchi, Y. Ito, Y. Hayashi, *ACS omega*, **4**, 14390 (2019).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Peni Ahmadi, Kyohei Muguruma, Tsung-che Chang, Satoru Tamura, Kazuki Tsubokura, Yasuko Egawa, Takehiro Suzuki, Naoshi Dohmae, Yoichi Nakao, Katsunori Tanaka	4. 巻 12
2. 論文標題 In vivo metal-catalyzed SeCT therapy by a proapoptotic peptide	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chem. Sci.	6. 最初と最後の頁 12266-12273
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/d1sc01784e.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件／うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Kyohei Muguruma, Peni Ahmadi, Tsung-Che Chang, and Katsunori Tanaka
2. 発表標題 Transition metal-catalyzed selective cell tagging (SeCT) therapy for cancer treatment
3. 学会等名 13th AFMC (Asian Federation for Medicinal Chemistry) International medicinal chemistry symposium, (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Kyohei Muguruma, Peni Ahmadi, Tsung-Che Chang, and Katsunori Tanaka
2. 発表標題 Metal-catalyzed selective cell tagging of a cytotoxic peptide for in vivo cancer therapy,
3. 学会等名 58th Japanese Peptide Symposium (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 六車共平、田中克典
2. 発表標題 日本化学会 第102 春季年会
3. 学会等名 生体内利用を指向したシクロペンタジエニルルテニウム触媒の機能化
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 六車共平、Peni Ahmadi、張宗哲、田中克典
2. 発表標題 ルテニウム触媒の生体内利用とがん治療への応用
3. 学会等名 日本薬学会 第142年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 六車共平、Peni Ahmadi、張宗哲、田中克典
2. 発表標題 ルテニウム触媒による反応活性種の生成とマウス体内でのがん治療への利用
3. 学会等名 第79回 有機合成化学協会 関東支部シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 六車共平、Peni Ahmadi、張宗哲、田中克典
2. 発表標題 マウス体内でのルテニウム触媒反応によるがん治療
3. 学会等名 日本化学会 第101 春季年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------