

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年4月17日現在

機関番号：17301
 研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22390022
 研究課題名（和文） 配座制限環状アミノ酸の統合研究～分子設計・合成・機能化・そして創薬へ～
 研究課題名（英文） Studies on conformational freedom-restricted cyclic amino acids - molecular design, synthesis, function, and drug design
 研究代表者
 田中 正一（TANAKA MASAKAZU）
 長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授
 研究者番号：00227175

研究成果の概要（和文）：

配座自由度を制限したキラル環状アミノ酸を設計し、そのオリゴペプチドを固相法あるいは液相法により合成し、オリゴペプチドのヘリカル2次構造を解析した。この2次構造解析の知見に基づき、不斉触媒への応用として不斉エポキシ化反応での基質の一般性の評価、並びに有機触媒の精密構造解析を行った。また、創薬への応用としてエンドモルフィン2誘導体等の生理活性ペプチドの合成を行った。これらの研究成果は、更なる機能化・創薬への応用の基礎知見となるものと考えられる。

研究成果の概要（英文）：

Conformational freedom-restricted chiral cyclic amino acids have been designed and synthesized. The cyclic amino acids-containing oligopeptides were prepared by solution-phase methods or solid-phase methods, and their helical secondary structures were studied. The cyclic amino acid-containing nonapeptide was used as a catalyst for asymmetric epoxidation of various α,β -unsaturated ketones, and its α -helical secondary structure was studied by X-ray crystallographic analysis. Also, biologically active oligopeptides having cyclic amino acids have been designed and synthesized.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	7,400,000	2,220,000	9,620,000
2011年度	3,200,000	960,000	4,160,000
2012年度	3,200,000	960,000	4,160,000
総計	13,800,000	4,140,000	17,940,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：薬学・創薬化学

キーワード：生体分子，薬学，有機化学，生理活性，アミノ酸，ペプチド，コンフォメーション，フォールドマー

1. 研究開始当初の背景

オリゴマーにすると一定の2次構造をとる分子を、米国の Gellman 教授はフォールドマーと名付けている。この分野では、Gellman 教授の他では、Seebach 教授らによる β ペプチドの研究が特によく知られている。フォールドマーの中でジ置換アミノ酸由来のペプチドの2次構造研究を行っている

のは、イタリアの Toniolo 教授を中心とするヨーロッパのグループ、あるいは米国の Karle らのグループがある。

このジ置換アミノ酸含有ペプチドによる機能性分子の開発では、不斉触媒としては、Miller 教授、Toniolo 教授の報告があり、2次構造制御による生理活性研究では、Verdine 教授、Hammer 教授、Gazit 教授ら

の研究がある。

これらに対して、筆者は合成化学により独自のキラルジ置換アミノ酸を設計し、そのオリゴマーの2次構造研究を行い、その成果に基づいて、環状アミノ酸・ペプチドの機能化、創薬への展開を行っている。特に、キラルなジ置換アミノ酸の不斉合成とそのオリゴマーの2次構造解析を行っており、 α -エチル化ジ置換アミノ酸の不斉合成法と、そのオリゴマーのプラナー2次構造を明らかとしている。また、 α 位が不斉中心でないキラル環状アミノ酸を合成し、そのオリゴマーが α 位の不斉中心がなくても側鎖上の不斉中心のみにより左巻きにヘリックスが制御されることを報告している。さらに、双環式ジ置換アミノ酸ペプチドでは、12個もの不斉中心にも関わらず右巻きと左巻き両方のヘリックスとなることを報告している。

2. 研究の目的

環状ジ置換アミノ酸は、含有ペプチドの2次構造を制限するという知見をもとに、さらに新規な環状ジ置換アミノ酸を設計・合成し、従来ない2次構造の構築と生体機能解明・生理活性ペプチドとしての創薬研究と、不斉触媒としての利用を目指すことを目的とした。

機能性オリゴマーの創製のために3つの項目：ニューヘリカル2次構造の創製、生体機能解明、生理活性アミノ酸・ペプチドの設計と創製、ヘリカルな不斉分子触媒の創製、について研究を行うことにした。

(1) ニューヘリカル2次構造の創製 新規環状アミノ酸を合成し、そのオリゴマーを構築して2次構造について解析する。特に、ヘリックスの中心から側鎖表面までが従来知られていない長い距離となる2次構造が構築可能か調べる。また、アミノ酸修飾による2次構造の変化についても研究を行う。

(2) 生体機能解明、生理活性アミノ酸・ペプチドの設計と創製 生体機能・生理活性への応用研究として、ヘリカル2次構造による耐性菌にも効果を発揮する抗菌ペプチドの設計・評価 ESRにより検出可能な安定ラジカル型アミノ酸・ペプチドプローブを創出し生体内レドックス反応解析、 β アミロイドペプチド凝集阻害オリゴマーの設計・創製 を目指して研究を行う。

(3) ヘリカルな不斉分子触媒の創製 環状アミノ酸を導入したヘリックス構造を不斉触媒とするカルコンの不斉エポキシ化反応に成功している。この反応の基質等の一般性拡大を目指して研究を行う。また、ヘリックス2次構造に触媒部位あるいは金属配位部分を導入し、新規なヘリカル触媒とそれを用いた不斉反応の開発を目指して研究を行う。

3. 研究の方法

(1) 多彩変換が可能な環状アミノ酸の設計と合成：アジド基を1つあるいは2つ有する環状アミノ酸、脱着可能アセタールを有する6員環状ジ置換アミノ酸、4員環状ジ置換アミノ酸、ラジカル環状ジ置換アミノ酸の効率的な合成経路の検討を行いグラムスケールでの合成を検討する。また、それらの官能基の変換の基礎実験を行う。

(2) ニューヘリカル2次構造の創製：環状アミノ酸を含有するオリゴマーの合成を液相法により検討する。また、Fmocアミノ酸を用いた固相法によりAibを含むヘテロマーの合成を行う。これらペプチド・フォールドマーのヘリカル2次構造の計算化学による予想を行う。さらに、単結晶が得られた化合物は、X線結晶解析により2次構造を解析する。

(3) 生体機能解明、生理活性アミノ酸・ペプチドの創製：アミノ酸型安定ラジカルによる生体内レドックス反応解析、エンドモルフィン2誘導体、生理活性オリゴマーの設計・創製のための基礎ペプチド合成実験を行う。また、この手法により分子設計を行ったオリゴマーの評価を行っていく。

(4) ヘリカルな不斉分子触媒の開発：キラル環状アミノ酸を含有するヘリカル2次構造ペプチドを触媒として利用した不斉合成反応を開発する。特に、不斉エポキシ化反応の一般性の検討と2次構造の関係を調べる。また、 ^1H NMRによる反応機構の解析を行う。さらに、ヘリカル2次構造ペプチドの応用として、不斉還元反応、1,4-付加反応、アシル化反応について調べる。

4. 研究成果

(1) 多彩変換が可能な環状アミノ酸の設計と合成：アジド基を1つあるいは2つ有する環状アミノ酸、脱着可能アセタールを有する6員環状ジ置換アミノ酸、ジアステレオメリックな6員環状ジ置換アミノ酸、4員環状ジ置換アミノ酸、ラジカル環状ジ置換アミノ酸の効率的な合成経路の検討を行い、一部のアミノ酸ではグラムスケールでの合成を可能とした。また、それらの官能基の変換の基礎実験を行った。下図には、代表的な環状ジ置換アミノ酸の構造式を示している。

(2) ニューヘリカル2次構造の創製：環状アミノ酸を含有するオリゴマーの合成を液相法により行いホモマーを合成した。また、Fmocアミノ酸を用いた固相法によりAibと環状アミノ酸を含むヘテロマーの合成を検討し、固相法が有用であることが分かった。これらペプチド・フォールドマーのヘリカル

2次構造の計算化学によるモデリングを行い右巻きあるいは左巻きヘリックス構造のエネルギー計算を行った。さらに、単結晶が得られた5員環状アミノ酸あるいは6員環状アミノ酸含有のペプチドは、X線結晶解析によりヘリカル2次構造を解析した。

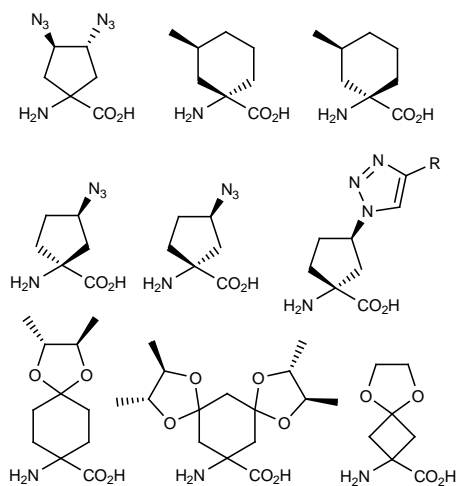


図1 合成したアミノ酸の構造式の抜粋

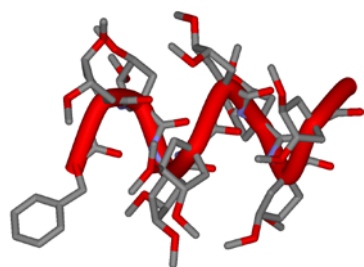


図2 (S,S)-Ac₆c^{DOM} デカペプチドの左巻きヘリックス構造

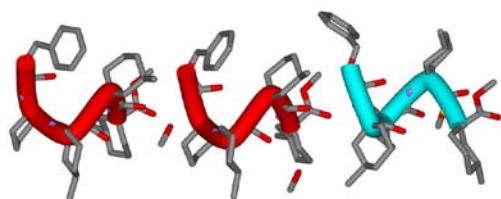


図3 (1S,3R)-Ac₆c^H テトラペプチドの左右の巻き方のヘリックス構造

(3) 生体機能解明、生理活性アミノ酸・ペプチドの創製：アミノ酸型安定ラジカルTOAC 並びにその誘導体含有するエンドモルフィン2誘導体の合成を行った。生理活性は共同研究にて評価予定である。また、脳疾患等の治療シード化合物となる可能性のあるペプチドの合成を行った。さらに、ビタ

ミンDの転写阻害剤として、ヘリックス構造を安定化させたヘプタペプチドの合成とその評価を行った。

(4) ヘリカルな不斉分子触媒の開発：キラル環状アミノ酸含有するヘリカル2次構造ペプチドを触媒として利用した不斉合成反応として、不斉エポキシ化反応の一般性の検討と2次構造の関係を調べた。特に、高エナンチオ選択性を与えたノナペプチドの2次構造をX線結晶解析により調べた。また、¹H NMRによる反応機構の解析を行った。さらに、ヘリカル2次構造ペプチドの応用として、不斉還元反応、1,4-付加反応等の可能性について調べたが、現在のところ良好な結果は得られなかった。

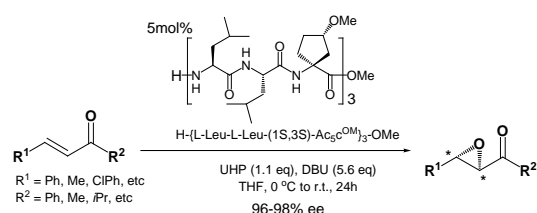


図4 ヘリカルノナペプチドによる α,β -不飽和ケトンの不斉エポキシ化反応

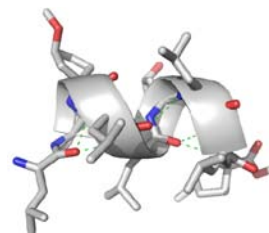


図5 N末無保護ノナペプチドの α -ヘリックス構造

以上、配座自由度を制限したキラル環状アミノ酸を設計・合成し、そのオリゴペプチドを合成し、2次構造を解析した。その知見に基づき機能化として、不斉エポキシ化反応での一般性の評価、並びに触媒の精密構造解析を行った。また、創薬への応用としてエンドモルフィン2誘導体等の生理活性ペプチドの合成を液相法と固相法により行った。これらの研究成果は、更なる機能化と応用へ繋がるものと考えられる。

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 16 件)

① K. Anan, Y. Demizu, M. Oba, M. Kurihara,

- M. Doi, H. Suemune, M. Tanaka, Helical Structures of Bicyclic α -Amino Acid Homo-chiral Oligomers with the Chiral Centers at the Side-chain Fused-ring Junctions, *Helv. Chim. Acta*, **95**(10), 1694-1713 (2012), 査読有.
DOI: 10.1002/hlca.201200403
- ② Y. Demizu, M. Doi, M. Kurihara, T. Maruyama, H. Suemune, M. Tanaka, One-Handed Helical-Screw Direction of Homopeptide-Foldamer Exclusively Induced by Cyclic α -Amino Acid Side-Chain Chiral Centers, *Chem. Eur. J.*, **18**, 2430-2439 (2012), 査読有.
DOI: 10.1002/chem.201102902
- ③ Y. Hirata, M. Oba, M. Fukudome, Y. Demizu, M. Kurihara, M. Doi, M. Tanaka, Synthesis and Conformational Analysis of Peptides Composed of Chiral Five-Membered Ring Amino Acids, *Peptide Science 2011*, 101-102 (2012), 査読無.
- ④ Y. Demizu, M. Doi, M. Kurihara, H. Okuda, M. Nagano, H. Suemune, M. Tanaka, Conformational studies on peptides containing α, α -disubstituted α -amino acids: chiral cyclic α, α -disubstituted α -amino acid as an α -helical inducer, *Org. Biomol. Chem.*, **9**, 3303-3312 (2011), 査読有.
DOI: 10.1039/C0OB01146K
- ⑤ Y. Demizu, N. Yamagata, S. Nagoya, Y. Sato, M. Doi, M. Tanaka, K. Nagasawa, H. Okuda, M. Kurihara, Enantioselective epoxidation of α, β -unsaturated ketones catalyzed by stapled helical L-Leu-based peptides, *Tetrahedron*, **67**, 6155-6165 (2011), 査読有.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tet.2011.06.075>
- ⑥ M. Nagano, M. Doi, M. Kurihara, H. Suemune, M. Tanaka, Stabilized α -helix-catalyzed enantioselective epoxidation of α, β -unsaturated ketones, *Org. Lett.*, **12**(15), 3564-3566 (2010), 査読有.
DOI: 10.1021/ol101435w
- ⑦ N. Yamagata, Y. Demizu, Y. Sato, M. Doi, M. Tanaka, K. Nagasawa, H. Okuda, M. Kurihara, Design of a stabilized short helical peptide and its application to catalytic enantioselective epoxidation of (*E*)-chalcone, *Tetrahedron Lett.*, **52**, 798-801 (2011), 査読有.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.tetlet.2010.12.030>
- ⑧ Y. Demizu, M. Tanaka, M. Doi, M. Kurihara, H. Okuda, H. Suemune, Conformations of peptides containing a chiral cyclic α, α -disubstituted α -amino acid within the sequence of Aib residues, *J. Pept. Sci.*, **16**, 621-626 (2010), 査読有.
DOI: 10.1002/psc.1273
- ⑨ M. Tanaka, M. Nagano, M. Doi, M. Kurihara, H. Suemune, Cyclic Amino Acid-Containing α -helical Peptide-Catalyzed Enantioselective Epoxidation Reaction, *Peptides 2010 (Proceedings of the 31st European Peptide Symposium)*, 622-623 (2010), 査読無.
- その他：7件。
- [学会発表] (計 39 件)
- ① 小野 京, 島袋充史, 大庭 誠, 土井光暢, 栗原正明, 出水庸介, 田中正一, 光学活性 5 員環メチオニンアナログの設計とそのペプチドの二次構造解析, 日本薬学会第 133 年会, (横浜市, 2013 年 3 月 28-30 日).
- ② 今西 愛, 大庭 誠, 出水庸介, 栗原正明, 土井光暢, 高崎紘臣, 末宗 洋, 田中正一, アジド基を持つ光学活性五員環アミノ酸の合成とそのペプチドの二次構造解析, 日本薬学会第 133 年会, (横浜市, 2013 年 3 月 28-30 日).
- ③ 宇久 翼, 大庭 誠, 出水庸介, 栗原正明, 土井光暢, 田中正一, キラルアセタールを有する 4 員環状アミノ酸よりなるペプチドの合成と二次構造解析, 第 29 回日本薬学会九州支部大会, (熊本市, 2012 年 12 月 8-9 日).
- ④ M. Tanaka, Design of helical peptides as chiral organocatalysts (Invited), First Japan - USA Organocatalytic Symposium, (Waikiki, Hawaii, US, Dec. 15-18, 2012).
- ⑤ 今西 愛, 大庭 誠, 出水庸介, 栗原正明, 土井光暢, 高崎紘臣, 末宗 洋, 田中正一, アジド基を有するキラル五員環状アミノ酸とそのペプチドの合成, 第 49 回ペプチド討論会, (鹿児島市, 2012 年 11 月 7-9 日).
- ⑥ 加藤郁実, 大庭 誠, 栗原正明, 高野由紀子, 田中正一, ペンダント型不斉中心を有する環状 α, α -ジ置換アミノ酸の合成, 第 49 回ペプチド討論会, (鹿児島市, 2012 年 11 月 7-9 日).
- ⑦ 石川奈保子, 末宗 洋, 出水庸介, 栗原正明, 大庭 誠, 田中正一, キラルアセタールを有する 6 員環状アミノ酸の合成

とそのオリゴマーの配座解析, 反応と合成の進歩シンポジウム(2012年11月5-6日, 東京都).

- ⑧ 田中正一, ヘリカル2次構造の制御とその有機分子触媒としての応用, 第5回有機触媒シンポジウム, (2012年10月26-27日, 東京都).
- ⑨ 末吉康人, 和泉有紀, 土井光暢, 大庭誠, 田中正一, 重水素同位体効果のペプチド二次構造への影響に関する研究, 第49回化学関連支部合同九州大会 (2012年6月30日, 北九州市).
- ⑩ O. P. Ouma, M. Oba, M. Doi, M. Tanaka, Synthesis of cyclic α,α -disubstituted α -amino acids bearing acetal moiety in the side-chain, 第49回化学関連支部合同九州大会&外国人研究者交流国際シンポジウム (2012年6月30日, 北九州市).
- ⑪ 池田絵美, 加藤巧馬, 花田智美, 出水庸介, 栗原正明, 土井光暢, 津田裕子, 大庭誠, 田中正一, 非天然型アミノ酸を含有するエンドモルフィン-2類縁体の合成, 第49回化学関連支部合同九州大会 (2012年6月30日, 北九州市).
- ⑫ 加藤巧馬, 池田絵美, 花田智美, 出水庸介, 栗原正明, 土井光暢, 津田裕子, 大庭誠, 田中正一, 非タンパク質構成アミノ酸を導入したエンドモルフィン-2類縁体の合成, 日本薬学会第132年会, (札幌市, 2012年3月28-31日).
- ⑬ 平田陽子, 大庭誠, 栗原正明, 出水庸介, 土井光暢, 田中正一, アセタールを有する光学活性5員環状アミノ酸よりなるペプチドの二次構造解析, 日本薬学会第132年会, (札幌市, 2012年3月28-31日).
- ⑭ 名児耶早織, 出水庸介, 山縣奈々子, 佐藤由紀子, 土井光暢, 田中正一, 栗原正明, 安定化ヘリカルペプチドを用いたビタミンD受容体転写阻害剤の創製, 日本薬学会第132年会, (札幌市, 2012年3月28-31日).
- ⑮ 宇久翼, 大庭誠, 出水庸介, 栗原正明, 土井光暢, 田中正一, キラルアセタールを有する4員環状アミノ酸とそのペプチドの合成, 日本薬学会第132年会, (札幌市, 2012年3月28-31日).
- ⑯ 大庭誠, 平田陽子, 島袋充史, 出水庸介, 栗原正明, 田中正一, 非天然型アミノ酸の設計・合成とそのペプチドの二次構造解析, 第2回新規材料創製を目指した合成生物学, (川崎市, 2012年1月27日).

その他: 23件.

[図書] (計1件)

- ① 大庭誠, 田中正一, メディカルドゥ,

α , α -ジ置換アミノ酸の設計・合成とそのペプチドの二次構造解析・機能化. (木曾良明(編): 遺伝子医学 MOOK21 最新ペプチド合成技術とその創薬研究への応用, 2012, 205-210.

[その他]

ホームページ等

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

6. 研究組織

(1) 研究代表者

田中 正一 (TANAKA MASAKAZU)

長崎大学・医歯薬学総合研究科・教授

研究者番号: 00227175