

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 6 月 13 日現在

機関番号：82601

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22590114

研究課題名（和文） 人工ペプチドによる核内レセプターアンタゴニストの創製

研究課題名（英文） Design of a stabilized short helical peptide and its application

研究代表者

栗原 正明（KURIHARA MASAOKI）

国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部 部長

研究者番号：20205206

研究成果の概要（和文）：LXXLL シークエンスを持つペプチドの中に、 α 、 α -ジ置換アミノ酸、側鎖架橋構造を導入することで、安定なヘリックス構造を形成できるペプチドの合成を行った。ヘリックス構造を安定化させるジ置換アミノ酸として α -アミノイソブチル酪酸（Aib）を用いた。側鎖架橋構造を構築するユニットとしてアリル基を有するセリン誘導体を用いた。これらのアミノ酸を含む10数種類のヘプタペプチドを設計、合成した。また、ビタミンDレセプターとコアクチベータの結合を阻害することも明らかにした。

研究成果の概要（英文）：We synthesized stapled helical leucine-based peptides containing 2-aminoisobutyric acid and a covalent cross-linked unit as inhibitors of vitamin D receptor (VDR)-coactivator interactions. The effects of these peptides on the human VDR were examined in an inhibition assay based on the receptor cofactor assay system, and one of them, exhibited potent inhibitory activity.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
22年度	1,300,000	0	1,300,000
23年度	1,100,000	0	1,100,000
24年度	1,100,000	0	1,100,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	0	3,500,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：創薬化学

キーワード：ヘリカルペプチド、核内レセプター、コアクチベータ

1. 研究開始当初の背景

核内レセプターのアンタゴニストとしてはリガンド型のアンタゴニストの研究が主に行われているが、核内レセプターに結合するコアクチベータの結合部位モチーフ-LXXLL-を用いてアンタゴニスト活性を発現させようとする試みもすでいくつか報告されている。(ref. Arch. Biochem. Biophys.206(2007)) しかしながらいずれも-LXXLL-のシークエンスを持つ天然型

ペプチドのバリエーションを用いたものである。本研究では、人工ペプチドを用いる。このような、アンタゴニストの研究はまだ行われていない。

2. 研究の目的

核内レセプター（ER, AR, VDR, RAR, etc）に結合するコアクチベータの結合モチーフ（-LXXLL-）をミミックする人工ペプチドによるアンタゴニストの創製を行う

ことを目的とする。核内レセプターのアンタゴニストは様々な疾患の治療薬として期待される。(ER α : 乳癌治療薬, AR: 前立腺癌治療薬, VDR: Paget 骨病治療薬)

3. 研究の方法

核内レセプターはリガンド依存的に転写を制御している。リガンドと結合した核内レセプターはさらにコアクチベータと結合し転写を引き起こす。核内レセプターとコアクチベータ (転写共役因子) の結合は-LXXLL-配列を認識することで起こる。この-LXXLL-を持つ短鎖ペプチドは、このタンパク質-タンパク質相互作用を阻害する可能性があり、転写阻害剤になりうる。LXXLL シークエンスを持つペプチドの中に、 α 、 α -ジ置換アミノ酸、側鎖架橋構造を導入することで、安定なヘリックス構造を形成できるペプチドの合成を行った。ヘリックス構造を安定化させるジ置換アミノ酸として α -アミノイソブチル酪酸 (Aib) を用いた。側鎖架橋構造を構築するユニットとしてアリル基を有するセリン誘導体を用いた。これらのアミノ酸を含む10数種類のヘプタペプチドを設計、合成した。側鎖架橋構造の構築は閉環メタセシス反応及び水素化反応で行った。合成したペプチドの二次構造解析は、溶液状態ではNMR, IR, CD スペクトル、結晶状態ではX線結晶解析を用いて行った。

4. 研究成果

その結果、溶液状態において、ペプチドは右巻きのヘリックスであることが示唆された。溶液状態で右巻きの α -ヘリックスと示唆されたペプチドは、再結晶で良質な単結晶が得られたのでX線結晶解析を行った。その結果、溶液中と同様の右巻きの α -ヘリックスであることが明らかとなった。また、ビタミンDレセプターとコアクチベータの結合を阻害することも明らかにした。特に側鎖架橋構造に水酸基を導入したペプチドは強力な阻害活性を有していた。

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 10 件)

- ① Y. Demizu, S. Nagoya, M. Shirakawa, M. Kawamura, N. Yamagata, Y. Sato, M. Doi, M. Kurihara, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **23**, in press (2013), 査読有,

<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960894X13007099>

- ② Y. Demizu, K. Okuhira, H. Motoi, A. Ohno, T. Shoda, K. Fukuhara, H. Okuda, M. Naito, M. Kurihara; Design and synthesis of estrogen receptor degradation inducer based on a protein knockdown strategy, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **22**, 1793-1796(2012), 査読有
- ③ Y. Demizu, Y. Yabuki, M. Doi, Y. Sato, M. Tanaka, M. Kurihara, Conformations of helical Aib peptides containing a pair of L-amino acid and D-amino acid, *J. Pept. Sci.*, **18**: 466-475 (2012), 査読有
DOI: 10.1002/psc.2418
- ④ Demizu, Y., Nagoya, S., Doi, M., Sato, Y., Tanaka, M. Kurihara, M., Twisted Structure of a Cyclic Hexapeptide Containing a Combination of Alternating L-Leu-D-Leu-Aib Segments, *J. Org. Chem.*, **77**, 9361-9365 (2012), 査読有
- ⑤ Yamagata, N., Demizu, Y., Sato, Y., Doi, M., Tanaka, M., Nagasawa, K., Okuda, H., Kurihara, M., Design of a stabilized short helical peptide and its application to catalytic enantioselective epoxidation of (E)-chalcone *Tetrahedron Letters*, **52**, 798-801 (2011), 査読有
- ⑥ 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
- ⑦ Y. Demizu, M. Doi, M. Tanaka, H. Okuda, M. Kurihara, Screw-Sense Control of Helical Oligopeptides Containing Equal Amounts of l- and d-Amino Acids, *Chem. Eur. J.*, **17**, 11107 - 11109 (2011), 査読有
- ⑧ Y. Demizu, M. Doi, Y. Sato, M. Tanaka, H. Okuda, M. Kurihara, Effect of one D-Leu residue on right-handed helical -L-Leu-Aib-peptides in the crystal state, *J. Pept. Sci.*, **17**, 420-426 (2011), 査読有
- ⑩ Demizu, Y., Yamagata, N., Sato, Y., Doi, M., Tanaka, M., Okuda, H., Kurihara, M., Controlling the helical screw sense of peptides with C-terminal L-valine, *J. Pept. Sci.* **16**, 153-158(2010), 査読有

- ⑪ Demizu, Y., Doi, M., Sato, Y., Tanaka, M., Okuda, H., Kurihara, M., Three-Dimensional Structural Control of Diastereomeric Leu-Leu-Aib-Leu-Leu-Aib Sequences in the Solid State, *J. Org. Chem.*, **75**, 5234-5239 (2010), 査読有

[学会発表] (計 10 件)

- ① 出水庸介, 土井光暢, 佐藤由紀子, 田中正一, 栗原正明; ジ置換アミノ酸による LD-ペプチドの二次構造制御
日本薬学会第 133 年会 (2013/03/28-30, 横浜)
- ② 名児耶早織, 出水庸介, 佐藤由紀子, 正田卓司, 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 VDR-コアクチペータ結合阻害剤の創製
日本薬学会第 133 年会 (2013/03/28-30, 横浜)
- ③ 山崎徳和, 出水庸介, 正田卓司, 佐藤由紀子, 栗原正明; らせん構造を有する新規フォルダマーの創製
日本薬学会第 133 年会 (2013/03/28-30, 横浜)
- ④ 白川真奈美, 名児耶早織, 出水庸介, 正田卓司, 佐藤由紀子, 栗原正明; LXXLLモチーフを有する安定化ヘリカルペプチド
日本薬学会第 133 年会 (2013/03/28-30, 横浜)
- ⑤ 名児耶早織, 出水庸介, 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 VDR 転写阻害剤の設計と合成
日本ケミカルバイオロジー学会 第 7 回年会 (2012/06/07-09, 京都)
- ⑥ 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 (2012/03/29-31, 札幌)
- ⑦ S. Nagoya, Y. Demizu, Y. Sato, M. Doi, M. Tanaka, H. Okuda, M. Kurihara; Design of Stabilized α -Helical Peptides for Transcriptional Inhibitor of Nuclear Receptor AIMECS11 (2011/11/29-12/2, Tokyo)
- ⑧ 出水庸介, 名児耶早織, 佐藤由紀子, 奥田晴宏, 栗原正明, 土井光暢, 田中正一; 安定化ヘリカルペプチドを用いた α , β -不飽和ケトンの不斉エポキシ化
第 37 回反応と合成の進歩シンポジウム (2011/11/7-8, 徳島)
- ⑨ M. Kurihara, Y. Demizu, N. Yamagata, Y. Sato, Y. Takeuchi, M. Doi, M. Tanaka, H. Okuda; Design of a stabilized helical peptides and its application

22nd American peptide symposium (2011/06/25-30, San Diego)

- ⑩ 出水庸介, 山縣奈々子, 佐藤由紀子, 土井光暢, 田中正一, 奥田晴宏, 栗原正明; ヘリカルペプチドの制御とカルコン類の不斉エポキシ化への応用
日本薬学会第 131 年会 (2011/03/28-31, 静岡)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

6. 研究組織

(1) 研究代表者

栗原 正明 (KURIHARA MASA AKI)

国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部
研究者番号: 20205206

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

出水 庸介 (DEMIZU YOSUKE)

国立医薬品食品衛生研究所 有機化学部
研究者番号: 90389180