

学位論文題名

ペプチドの多様な立体配座を模倣する配座制御型ペプチド
ミメティクスの創製

学位論文内容の要旨

ホルモンやサイトカインに代表される生理活性ペプチドは、創薬を目指す研究者にとって非常に魅力的な化合物である。しかしながら、ペプチド骨格に起因する代謝的不安定性や低吸収性などの薬物動態学的な欠点により、生理活性ペプチドそのものの医薬としての利用は制限される。生理活性ペプチドを医薬へと展開するべく、非ペプチド骨格を用いたペプチド模倣体（ペプチドミメティクス）の創製研究が精力的に行われてきた。しかし、30年を越えるペプチドミメティクスの研究歴史にも関わらず、生理活性ペプチドを効率的にペプチドミメティクスへと変換することは未だに困難を伴う。

効率的なペプチドミメティクス創製が困難である主な理由は、ペプチド骨格の有する高い配座自由度のため、模倣すべき生理活性ペプチドの標的結合配座を決定し難いことにある。ペプチドは水溶液中で屈曲したターン構造から伸展した β ストランド構造までの幅広い二次構造をとり、その立体配座を柔軟に変化させることで様々な分子と相互作用することができる。そして、生理活性ペプチドの主な標的分子である受容体は立体構造情報が乏しいため、生理活性ペプチドがどのような立体配座で結合するかは多くの場合確定できない。したがって、効率的なペプチドミメティクス創製を実現するためには、ペプチドの多様な立体配座を模倣できるペプチドミメティック骨格の開発が必要不可欠である。さらにペプチドミメティクスには、その創製の根幹となる生理活性ペプチドの標的結合配座を提示できる性質が求められており、立体配座が制限されたペプチドミメティクスの創製が望まれる。

このような背景の下で筆者は、多様な構造特性を有するシクロプロパンを配座制御素子として活用し、効率的なペプチドミメティクス創製の合理的な方法論開発に関する研究を遂行した。本研究は、「ペプチドの立体配座多様性」を「シクロプロパン型ペプチドミメティクスの三次元構造多様性」が模倣することを理論（作業仮説）とし、理論化学に基づく作業仮説の検証を経て、「生理活性ペプチドの効率的なペプチドミメティクス化」および「生理活性ペプチドの標的結合配座の提示」という2つの主目的の達成を目標とする。

シクロプロパンは最小かつ配座自由度のない炭素環であり、置換基をシス形もしくはトランス形に固定できる「シス／トランス制御」、シクロプロパン環特有の π 電子供与性立体電子効果により隣接する sp^2 炭素が優先してとる「二等分配座」、シクロプロパン上のシス位置換基間に働く強力な立体反発である「シクロプロパン歪み」の3つの構造特性が知られる。筆者は、これらの構造特性を活用すれば分子の立体配座を多様な三次元配置に規制できると考え、テトラペプチドの中央ペプチド結合部をシクロプロパンで置換したシクロプロパン型ペプチドミメティクスを考案した。

本ミメティクスは連続する3つの不斉炭素に起因する8つの立体異性体で構成される。シクロプロパンの構造特性により各立体異性体がそれぞれ多様な三次元構造に予想通りに制御されることを、ラセミ体の4化合物を合成して結晶化し、

X 線結晶構造解析により三次元構造を決定することで明らかにした。さらに、この「シクロプロパン型ペプチドミメティクスの三次元構造多様性」が前述した「ペプチドの立体配座多様性」を模倣することを、理論化学の 1 つであるケムインフォマティクスの概念に基づいて検証した。すなわち、分子記述子として両末端 α 炭素間距離、そして、主成分解析により算出した主成分 1 と主成分 2 を用いて本ミメティクスおよびデータベースから得た天然のテトラペプチド構造を表現し、ケミカルスペース上で比較することにより両者が類似していることを定性的に示した。

本研究の作業仮説が成り立つことを論理的に示すことができたので、本研究の主目的の 1 つである「生理活性ペプチドの効率的なペプチドミメティクス化」に着手した。まず、標的受容体としてメラノコルチン受容体 (MCR) を選び、メラノコルチンのアミノ酸配列において MCR との結合に重要なメッセージ配列 (His-Phe-ArgTrp) に基づいたシクロプロパン型ペプチドミメティクスを合成することとした。8 つの立体異性体を全て合成し分けることができる不斉合成経路を確立し、8 種の立体異性体それぞれの MCR 親和性を評価した。その結果、合成した 8 化合物の中から MCR のサブタイプである MC4R に選択的な親和性を示す 2 つのジアステレオマー *ent-43* ($K_i = 0.38 \mu\text{M}$) および *ent-44* ($K_i = 0.37 \mu\text{M}$) を得ることに成功し、これらミメティクスは全てヒト血清中においてメッセージ配列テトラペプチドよりも極めて安定であった。さらに、もう 1 つ標的受容体としてオキシトシン受容体を設定し、オキシトシン中のテトラペプチド配列 (Tyr-Ile-Gln-Asn) に基づいたクロプロパン型ペプチドミメティクスを合成することで、OTR に対してアンタゴニスト活性を有するミメティクスを見出すこともできた。以上の結果より、シクロプロパン型ペプチドミメティクスに基づいた少ない化合物群で効果的にペプチドの立体配座を探索し、生理活性ペプチドを効率的にペプチドミメティクスへと変換できたとともに、本ミメティクスが多様なアミノ酸配列に対して適用できる高い汎用性を備えていることを示した。

最後に、本研究のもう 1 つの主目的である「生理活性ペプチドの受容体結合配座の提示」の達成に向けた研究を、先に合成した MCR リガンド *ent-43* および *ent-44* に基づいて行った。両ジアステレオマーは、シクロプロパン歪みによって His と Phe 側鎖に相当する官能基の三次元配置が大きく異なると予想された。そこで、各官能基の近傍に化学的に修飾を加え、両ジアステレオマー間で MC4R に対する親和性に差が生じることを期待した。その結果、期待通りに MC4R 親和性に差が生じ、メラノコルチンメッセージ配列の MC4R 結合配座が *ent-43* の有する三次元構造に模倣することを提示し示すことができた。本結果は、MC4R に対して pM レベルの高い親和性を有する環状ペプチドの構造解析結果との比較からも支持された。さらに、他グループによるメッセージ配列テトラペプチドの構造活性相関研究の結果ともよい一致を示し、*ent-43* を MC4R 親和性がより高い誘導体 ($K_i = 0.036 \mu\text{M}$) へと展開することもできた。本誘導体は、MC4R 結合に適する三次元構造を有するため MC3R および MC5R と比較して 15~40 倍の高い選択性を有していた。

以上、筆者は「シクロプロパン型ペプチドミメティクスの三次元構造多様性」が「ペプチドの立体配座多様性」を模倣することを作業仮説とし、MCR リガンドと OTR リガンドを標的として「生理活性ペプチドの効率的なペプチドミメティクス化」を達成した。さらに、誘導体化研究によりメラノコルチンメッセージ配列の MC4R 結合配座が *ent-43* の三次元構造に類似するという「生理活性ペプチドの受容体結合配座の提示」を達成し、本ミメティクスの高い有用性を示した。

学位論文審査の要旨

主査	教授	周東	智
副査	教授	橋本	俊一
副査	准教授	有澤	光弘
副査	准教授	穴田	仁洋

学位論文題名

ペプチドの多様な立体配座を模倣する配座制御型ペプチド ミメティクスの創製

博士学位論文審査等の結果について（報告）

生理活性ペプチドを医薬へと展開するべく、非ペプチド骨格を用いたペプチド模倣体（ペプチドミメティクス）の創製研究が精力的に行われてきたが、その効率的創出は未だに困難である。その主な理由は、ペプチド骨格の有する高い配座自由度のため、標的結合配座を決定し難いことにある。したがって、効率的なペプチドミメティクス創製実現には、ペプチドの多様な立体配座を模倣できるペプチドミメティック骨格の開発が必要不可欠である。さらにペプチドミメティクスには、その創製の根幹となる生理活性ペプチドの標的結合配座を提示できる性質が求められており、立体配座が制限されたペプチドミメティクスの創製が望まれる。

著者は、多様な構造特性を有するシクロプロパンを配座制御素子として活用し、効率的なペプチドミメティクス創製の合理的な方法論開発に関する研究を遂行した。本研究は、「ペプチドの立体配座多様性」を「シクロプロパン型ペプチドミメティクスの三次元構造多様性」が模倣することを作業仮説とし、「生理活性ペプチドの効率的なペプチドミメティクス化」および「生理活性ペプチドの標的結合配座の提示」という目的の達成を目標とした。

シクロプロパンは最小かつ配座自由度のない炭素環であり、置換基をシス形もしくはトランス形に固定できる「シス／トランス制御」、特有の π 電子供与性立体電子効果により隣接する sp^2 炭素が優先してとる「二等分配座」、シクロプロパン上のシス位置換基間に働く強力な立体反発である「シクロプロパン歪み」の3つの構造特性がある。著者は、これらの構造特性を活用すれば分子の立体配座を多様な三次元配置に規制できると考え、テトラペプチドの中央ペプチド結合部をシクロプロパンで置換したシクロプロパン型ペプチドミメティクスを考案した。

本ミメティクスは連続する3つの不斉炭素に起因する8つの立体異性体で構成される。シクロプロパンの構造特性により各立体異性体がそれぞれ多様な三次元構造に予想通りに制御されることを明らかにし、「シクロプロパン型ペプチドミメティクスの三次元構造多様性」が「ペプチドの立体配座多様性」を模倣することを、ケムインフォマティクスに基づき検証した。

次に、「生理活性ペプチドの効率的なペプチドミメティクス化」に着手した。メラノコルチン受容体 (MCR) との結合に重要なメッセージ配列 (His-Phe-Arg-Trp) に基づいたシクロプロパン型ペプチドミメティクスを設計し、立体異性体を全て合成し分けることが可能な不斉合成経路を確立・合成した。その結果、MC4R に選択的な親和性を示す2つのジアステレオマーを得ることに成功し、ミメティクスはヒト血清中において極めて安定であった。さらに、標的受容体としてオキシトシン受容体を設定し、アンタゴニスト活性を有するミメティクスを見出した。以上のより、シクロプロパン型ペプチドミメティクスに基づきペプチドの立体配座を探索、ペプチドミメティクスへの変換が可能であることを示した。

「生理活性ペプチドの受容体結合配座の提示」の達成に向けた研究を、先に合成した MCR リガンド *ent*-43 および *ent*-44 に基づいて行った。His と Phe 側鎖に相当する官能基の近傍に化学的修飾を加えた結果、期待通り MC4R 親和性に差が生じ、メラノコルチンメッセージ配列の MC4R 結合配座が *ent*-43 の有する三次元構造に模倣することを提示した。さらに、*ent*-43 を MC4R 親和性がより高い誘導体 ($K_i = 0.036 \text{ mM}$) へと展開した。

以上述べたように著者は、「シクロプロパン型ペプチドミメティクスの三次元構造多様性」が「ペプチドの立体配座多様性」を模倣することを作業仮説とし、MCR リガンドと OTR リガンドを標的として「生理活性ペプチドの効率的なペプチドミメティクス化」を達成した。さらに、誘導体化研究によりメラノコルチンメッセージ配列の MC4R 結合配座が *ent*-43 の三次元構造に類似するという、「生理活性ペプチドの受容体結合配座の提示」を達成し、本ミメティクスの高い有用性を示した。

以上の成果は創薬化学、特にペプチド化学の発展に大いに寄与する知見であり、北海道大学博士 (生命科学) の学位を授与するに十分値するものと判断した。