

アミノ酸側鎖環境がペプチド二次構造ならびに機能に与える影響に関する研究

長崎大学大学院医歯薬学総合研究科生命薬科学専攻 古川 かほり

[目的] L-アミノ酸の α 位水素をアルキル基で置換した非天然型アミノ酸である α, α -ジ置換アミノ酸は、天然のアミノ酸と比較すると、1)化学的安定性の向上、2)脂溶性の増大、3)側鎖のコンフォメーション自由度の制限、4)含有ペプチドのコンフォメーション自由度の制限、5)含有ペプチドの生体内での安定性の増大、などの特性を有している。この特性を利用し、アミノ酸側鎖構造がペプチド二次構造ならびにペプチドの機能について与える影響について調査することを目的とした。

①メントン由来の不斉中心を有する環状ジ置換アミノ酸含有ペプチドの二次構造解析

環状ジ置換アミノ酸よりなるホモペプチドでは、側鎖上のみの不斉中心もしくは側鎖と α 位両方の不斉中心により、ヘリックス二次構造の右巻きもしくは左巻きの制御が可能であることが報告されている。今回、アミノ酸側鎖にメントン由来のアセタールを持つ環状ジ置換アミノ酸を設計し、側鎖アセタール構造における不斉環境がペプチド二次構造に与える影響について調査することを目的とした(**Figure 1**)。

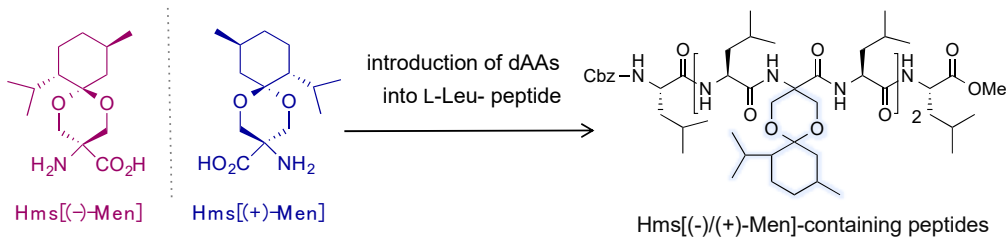


Figure 1. Design of peptides containing α, α -disubstituted amino acids with menthone in the side chain through acetal moiety.

②低 pH 環境下で側鎖構造が変化するジ置換アミノ酸含有ペプチドの二次構造解析

環状ジ置換アミノ酸を含有するペプチドは安定なヘリックス構造を形成する。一方で、エチル基以上の大きな置換基を有する鎖状ジ置換アミノ酸からなるペプチドは、主鎖が伸びたプラナー構造をとることが明らかになっている。このようなジ置換アミノ酸のユニークな構造特性に注目し、環状ジ置換アミノ酸として、側鎖に環状アセタール構造を有するアミノ酸 Hms(X)を L-Leu シークエンス中に導入したペプチドを設計・合成

構造変化
二次構造
を行う
目的と
(**Figure**

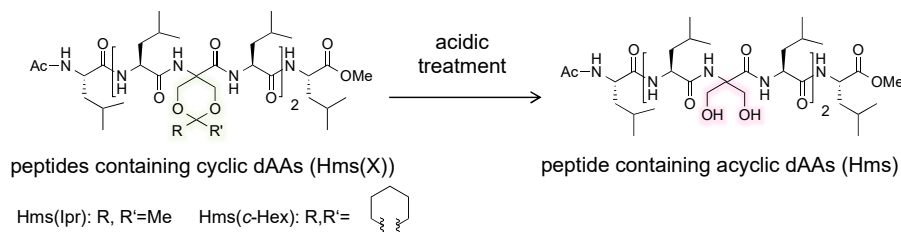


Figure 2. Low pH-triggering changes in peptide secondary structures.

し、構
前後の
造解析
ことを
した。
2)。

[結果]

①メントン由来の不斉中心を有する環状ジ置換アミノ酸含有ペプチドの二次構造解析

トリス(ヒドロキシメチル)アミノメタンを出発原料として、6工程76%の収率で、Hmsの側鎖をTMS保護した中間体を合成した。この中間体に対して、TMSOTf存在下 -80°C にてカルボニル化合物と反応す

ることで、種々のアセタール構造を有するジ置換アミノ酸を合成した。L-Leu中に環状ジ置換アミノ酸導入したオクタペプチドを液相法にて合成した。ペプチドの二次構造解析を、FT-IR・CDスペクトル測定による溶液中ならびにX線結晶構造解析により行った。Hms(-)/(+)-Men含有オクタペプチドはCDスペクトルにおいて222 nmと208 nmに負の極大を持つことから右巻きのヘリックス構造を取ることが示唆された。Hms(-)/(+)-Men含有ヘキサペプチドの結晶状態の二次構造を比較するといずれも右巻きの 3_{10} -ヘリックス構造を取っており、アミノ酸側鎖における不斉環境がペプチド二次構造に与える影響は少ないことがわかった(**Figure 4**)。

②低 pH 環境下で側鎖構造が変化するジ置換アミノ酸含有ペプチドの二次構造解析

Hms(Ipr)含有オクタペプチドならびにHms(c-Hex)含有オクタペプチドは、CDスペクトルの結果から右巻きの 3_{10} -ヘリックス構造を取っていることが示唆された。またX線結晶構造解析により、Hms(Ipr)含有オクタペプチドは、右巻きの α -ヘリックス構造をとっていた。環状ジ置換アミノ酸Hms(Ipr)含有オクタペプチドならびにHms(c-Hex)含有オクタペプチドを酸性条件下にてペプチド中でのアミノ酸側鎖の変換を行った。それぞれのペプチドをCDスペクトルにて二次構造解析を行ったところ、環状ジ置換アミノ酸含有ペプチドはヘリックス構造を取っているのに対して、鎖状ジ置換アミノ酸含有ペプチドはランダム構造を取っていた(**Figure 5**)。この理由として、アミノ酸側鎖構造が環状から鎖状への変化することに加え、極性の変化、さらに水素結合供与体の生成することの3つの要素があると考えられる。

[まとめ] 項目①・②より、アミノ酸側鎖環境が、ペプチド二次構造に影響を与えることが分かった。また、側鎖を変換することで二次構造の制御に成功した。本研究により、二次構造の人工制御ならびに機能性ペプチドの設計を行うための知見を得ることができた。

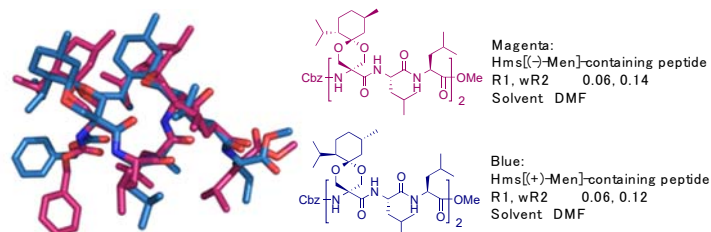


Figure 4. Overlaid structures of Hms[(-)-Men] (magenta) and Hms[(+)-Men] (blue)-containing peptides, as viewed along the helical axis.

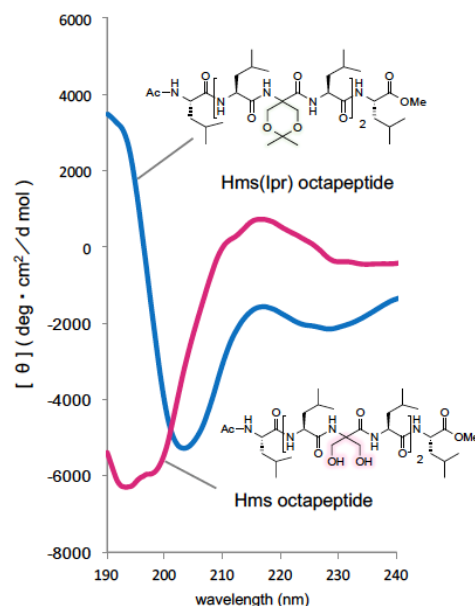


Figure 5. CD spectra of Hms(Ipr) and Hms octapeptides.

[基礎となった学術論文]

- (1) K. Furukawa, M. Oba, G. O. Opiyo, M. Doi, M. Tanaka: Cyclic α,α -Disubstituted α -Amino Acids with Menthone in Their Side-Chains Linked through an Acetal Moiety and Helical Structures of Their Peptides. *Eur. J. Org. Chem.*, **17**, 2988-2998 (2016).
- (2) K. Furukawa, M. Oba, K. Toyama, G. O. Opiyo, Y. Demizu, M. Kurihara, M. Doi, M. Tanaka: Low pH-triggering changes in peptide secondary structures. *Org. Biomol. Chem.*, **15**, 6302-6305 (2017).