

氏 名 茂 森 一 輝

学位（専攻分野） 博士(理学)

学 位 記 番 号 総研大甲第451号

学位授与の日付 平成12年3月24日

学位授与の要件 数物科学研究科 機能分子科学専攻

学位規則第4条第1項該当

学 位 論 文 題 目 環状メタロペプチドの新規合成法の開発

論 文 審 査 委 員 主 査 教 授 渡 辺 芳 人

教 授 平 田 文 男

助 教 授 加 藤 立 久

助 教 授 永 田 央

教 授 塩 谷 光 彦 (東京大学)

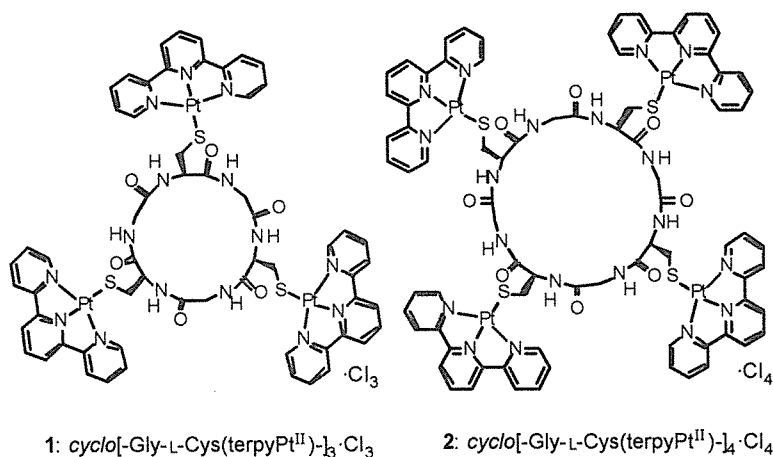
石 田 齊 (科学技術振興事業団)

論文内容の要旨

1. 序論 ペプチドは、そのアミノ酸配列を設計通りに合成する手法が確立しているため、生体機能性物質としてのみならず、機能性材料の構成要素としても大きな期待が寄せられている。中でも環状ペプチドについては、天然のものとして抗生物質の中に見出され、また人工分子としてもイオンの膜輸送に関するユニークな機能などが注目されてきた。例えば、Ghadiri らは環状ペプチドをチューブ状に並べ脂質二重膜に導入することにより、イオンや薬物輸送システムへの適用を試みている。一方、金属イオンや錯体は、有機分子にはない構造および機能上の特性を有している。例えば、酸化還元、磁性、光物性やルイス酸性といった反応性に関する特性や、さらには、機能性配位子の固定や集積化を様々な立体化学的様式で行うことができる機能をもつ。これらは、機能分子を構築する上で極めて有用な構成単位となりうる。そこで、彼は、環状ペプチドと金属錯体の構造融合による環状メタロペプチドの新合成法を開発することにした。

2. 目的 アミノ酸の中には、システインのチオール基やヒスチジンのイミダゾール基のように金属に配位する残基が幾つか見られ、金属酵素の活性中心においても重要な役割を果たしている。これらのアミノ酸をペプチド中に組み込むことにより、ペプチド上に金属イオンや錯体を導入することができ、それぞれ単独では実現できない空間配置や機能などが期待される。本研究では、ペプチド中に複数の金属錯体を導入する新しい合成法を開発することを目的として、金属錯体を導入した直鎖状ペプチドの高効率環化、および環状メタロペプチドの化学的性質について検討を行った。具体的には、金属配位能を有するシステインとグリシンの繰り返し配列をもつペプチド上に、DNA 結合能や光応答機能をもつターピリジン白金(II)錯体 (terpyPt^{II}) を整列させた、環状メタロペプチド $cyclo[-Gly-L-Cys(terpyPt^{II})-]_nCl_n$ ($n = 3 : 1, n = 4 : 2$) を合成することに成功した。

3. 実験・結果 まず、自動合成機により合成した直鎖状ペプチド $H_2-(Gly-L-Cys)_n-OH \cdot CF_3CO_2$ ($n = 2, 3, 4, 5$) のチオール残基にそれぞれターピリジン白金(II)錯体を導入し、直鎖状メタロペプチド $H_2-[-Gly-L-Cys(terpyPt^{II})]_n-OH \cdot (CF_3CO_2)_{n+1}$ ($n = 2, 3, 4, 5$) を約 90% の高収率で得た。次に、 $n = 3$ および $n = 4$ の直鎖状メタロペプチドを水溶性縮合剤 (EDC·HCl) と活性化剤 (HOBT) の存在下、 H_2O-CH_3CN (7:3) 中で縮合環化することにより、それぞれ単離収率 58% で暗赤色の環状メタロペプチド $cyclo[-Gly-L-Cys(terpyPt^{II})-]_nCl_n$ ($n = 3, 4$) を得た。興味深いことに、 $n = 2$ の直鎖状メタロペプチドを同様に縮合環化すると、二分子が縮合したのち環化した環状メタロペプチド $cyclo[-Gly-L-Cys(terpyPt^{II})-]_4Cl_4$ が得られた。これら直鎖および環状メタロペプチドの構造は、エレクトロスプレーイオン化質量分析 (ESI-MS) およびプロトン核磁気共鳴 (¹H NMR) により同定した。それぞれの環状メタロペプチドの環サイズは、高分解能スペクトルにおける同位体スプリットの間隔により決定した。また、¹H NMR 測定 (D₂O, 60 °C) において、直鎖状メタロペプチドはそれぞれのアミノ酸ユニットが独立した共鳴スペクトルを与えるのに対し、環状メタロペプチドの場合、それぞれの Gly-L-Cys(terpyPt^{II}) 部分がすべて等価なスペクトルを示し、水溶液中で対称性の高い構造をとっていることが明らかとなった。これら環状体の金属錯体(terpyPt^{II})部分は、酸処理により容易に除去できた。また、環状ヘキサメタロペプチド ($n = 3$) は、種々のベンゼントリカルボン酸塩の混合物中から



1, 3, 5-異性体に高い選択性を示し、1 : 1 複合体として分離することができた。

4. 考察 これまで、環状ペプチドはそのほとんどが有機溶媒中や固相法により合成されてきた。本研究においては、天然型アミノ酸であるシステインとグリシンの繰返し配列を有するペプチド上に金属錯体を導入させることにより、水溶液中で効率よく環化させることに成功した。これは、直鎖状メタロペプチドが、金属錯体の導入により、環化に適した折り畳み構造をとるためと推察される。本法により、環状ペプチド上に金属錯体を規則正しく集積化することができた。また、金属錯体 (terpyPt^{II}) 部分は除去が可能のため、他の機能性金属錯体で置換することも可能である。ペプチドの環サイズや金属錯体の種類を変えることにより、本法の一般性を高めることが今後の大きな課題である。本研究により開発された環状メタロペプチドの新しい合成法は、金属錯体を集積・配列化する方法の一つとして新しい切り口を提供するものであり、さらに特殊空間 (分子認識場、光応答場、不斉場等) の構築に展開できると確信する。

論文の審査結果の要旨

本研究では、環状メタロペプチドの新規合成法の開発が行なわれた。環状ペプチドは、金属錯体の集積構造を分子レベルで制御する場として興味を持たれる。従来の環状ペプチド合成は収率等に問題があったが、本研究では、ペプチド上に複数の金属錯体を導入した直鎖状メタロペプチドを縮合剤および活性化剤の存在下、水溶液中で直接環化することにより、良収率で環状メタロペプチドを合成し、環状ペプチド上に複数の金属錯体を規則正しく並べることに成功した。これは、複数の金属錯体を側鎖にもつ直鎖状メタロペプチドから環状メタロペプチドを合成した最初の例である。

具体的には、まず、金属結合能を有する L-システインを配列中にもつペプチド上に、ターピリジン白金(II)錯体を導入することにより、直鎖状メタロペプチド $H_2\text{-[Gly-L-Cys(terpyPt}^{II}\text{)]}_n\text{-OH(CF}_3\text{CO}_2\text{)}_{n+1}$ ($n = 2 - 5$) を合成した。 $n = 3, 4, 5$ の直鎖状メタロペプチドを水溶性縮合剤 (EDC-HCl) および活性化剤 (HOBT) の存在下、 $H_2O\text{-CH}_3\text{CN}$ (7:3) 中で環化したところ、それぞれ分子内で環化した環状メタロペプチド $\text{cyclo-[Gly-L-Cys(terpyPt}^{II}\text{)]}_n\text{Cl}_n$ ($n = 3, 4, 5$) が良収率で生成した。一方、 $n = 2$ の直鎖状メタロペプチドからは、二分子が分子間で縮合したのちに分子内環化した $\text{cyclo-[Gly-L-Cys(terpyPt}^{II}\text{)]}_4\text{Cl}_4$ が良収率で得られた。これらの構造は、NMR、ESI-TOF 型質量分析、元素分析などにより同定された。環状メタロペプチドの金属錯体部分は、酸処理により容易に除去することができた。また、環状メタロペプチドによるアニオン性分子の分離についても検討が行われ、特定の基質と高選択的に 1 : 1 複合体を形成することが明らかにされた。

このように、本研究は複数の金属錯体を側鎖にもつ環状ペプチドの合成、構造、機能について、分子科学的な視点からのアプローチを行うことで、従来にない機能性ペプチドの新しい手法を提供している。

以上の研究成果は、2 報の論文 (英文：一報は投稿準備中) としてまとめられている。本審査委員会では全員一致で、茂森一輝氏の提出論文は学位を与えるに相応しいものと判定した。

面接による試験は、出願者に学位論文の内容を約 1 時間で発表してもらい、その後、直鎖状および環状メタロペプチドの合成法と機能・構造上の特性、アニオン性分子との相互作用の詳細を中心に 1 時間にわたって質疑応答を行い、活発な論議が展開された。多面的な質問に対する的確に答えると共に、今後の研究の方向・解決すべき課題に対しても確固とした考えを持っていると判断された。

本論文は日本語で書かれているが、本論文の英文要旨および既に発表されている論文 (英文) を中心に英語力を審査し、語学力に何等問題はないと判定された。

また、公開発表会における発表も良く整理されており、合格と認定した。