

博 士 論 文

**One-Dimensional Assembly of Bowl-Shaped
Peptidic Macrocycles and Their Functions**

(お椀型大環状ペプチドの一次元自己組織化と機能開拓)

佐 藤 浩 平

【1】緒言

生命現象は鍵となる有機化合物によって厳密に制御されている。計算し尽くされたかのような天然物の構造は往々にして人間の想像を遥かに超えており、それらの生理活性にあやかることで我々は数々の医薬品を生み出してきた。本研究では、これら天然物に**生命が利用できていない潜在的機能**が隠されているのではないかという期待のもと、その基本骨格を有機合成的手法により修飾することで新機能の開拓を目指した。Figure 1 に設計した大環状ペプチド(S)-1 及び(S)-2 の構造を示す。これらのコア部位は海洋生物 *Lissoclinum* より単離された大環状ペプチド類縁体の構造を基にしている⁽¹⁾。美しい対称性を有するこれらのモチーフは、複雑で非対称な骨格を持つものが多い天然物の中でも異色の存在である。また、過去の研究により環内のアミド水素が隣接するチアゾール環上の窒素原子間で分子内水素結合を形成し、剛直なお椀型構造を形成すること (Figure 1)⁽²⁾、イオン捕捉能を有するといった魅力的な特徴を有することが知られている⁽³⁾。こ

これらのコアにアミド結合を介して複数の長鎖アルキル鎖を導入することで、大環状ペプチドを一次元に自己組織化させ、本来の機能の増幅、さらには新機能の開拓を目指した (Figure 1)。

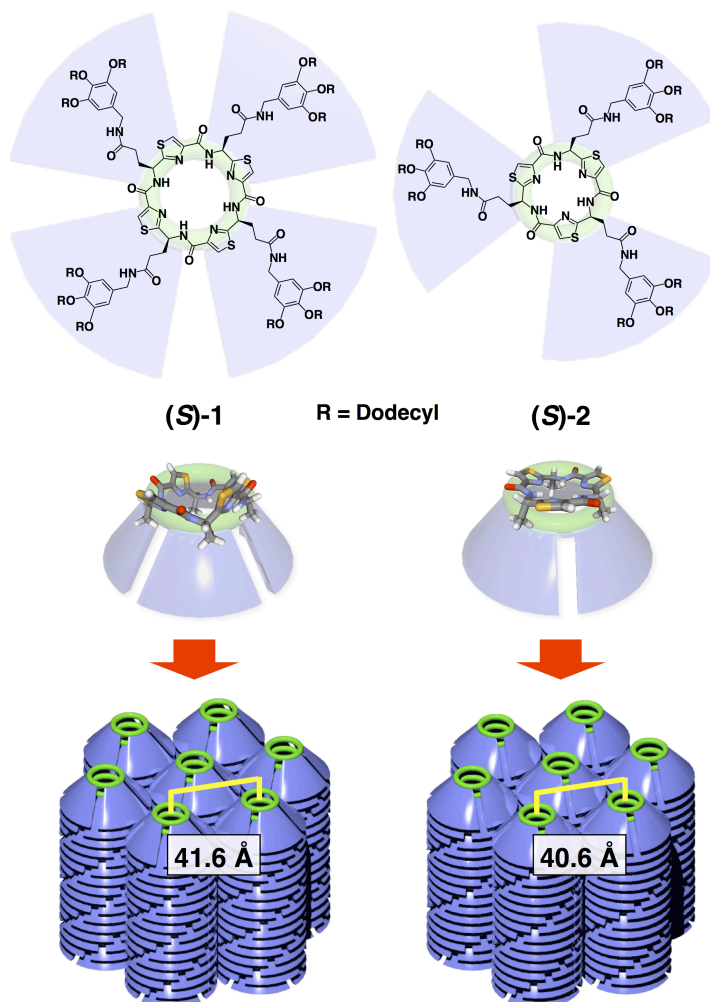


Figure 1. Molecular structures of peptidic macrocycles (S)-1 and (S)-2. Their core units are bowl-shaped (see the schematic illustrations) and self-assemble columnarily with a hexagonal geometry (numerical values represent intercolumnar distances). The estimated pore diameters for (S)-1 and (S)-2 are 5.7 and 4.0 Å, respectively.

【2】お椀型大環状ペプチドの一次元自己組織化^[2]

合成した大環状ペプチドの自己組織化能を検討するため、(S)-1 と(S)-2 の重シクロヘキサン溶液 (2.4 mM) を調製し、この溶液を 20 倍希釈 (0.12 mM) した際の ¹H NMR スペクトル変化を観察した。(S)-1 と(S)-2 共に、側鎖部位のアミド水素に対応するピーク (NH^{exo}) では希釈に伴う高磁場シフトが

観測されたのに対し、環内のアミド水素ピーク (NH^{endo}) では変化が見られなかった (Figure 2)。これは、側鎖のアミド部位が**分子間水素結合**を形成しているために希釈によってその解離が進行したのに対し、環内のアミド部位は隣接するチアゾール環の窒素原子との間で**分子内水素結合**を形成しているため、希釈による影響を受けなかったためである。

溶液状態において何らかの超分子構造体の形成が示唆されたため、続いて固体状態での集合挙動を検討した。示差走査熱量 (DSC) 測定の結果、(S)-1 と (S)-2 は昇温課程においてそれぞれ、 -14°C から 95°C 、 -12°C から 77°C の、室温を含む広い温度範囲において中間相を発現することが明らかとなった (Figures 3a and 3b)。(S)-1 と (S)-2 の偏光顕微鏡 (POM) 観察では中間相において扇形組織が観察され、X 線回折 (XRD) 測定の結果、ヘキサゴナル構造の (100)、(110)、(200) に帰属される回折パターンが観測された (Figures 3c and 3d)。以上の結果より、(S)-1 と (S)-2 はどちらも一次元状に自己組織化し、ヘキサゴナルカラムナー液晶相を発現することが明らかとなった。上述の通り、これらの大環状骨格は集積状態においても分子内水素結合によって剛直な構造を保っていると考えられるため、(S)-1、(S)-2 からなる超分子カラムの内部にはサイズが厳密に制御されたナノチャンネルが形成されていると期待できる。

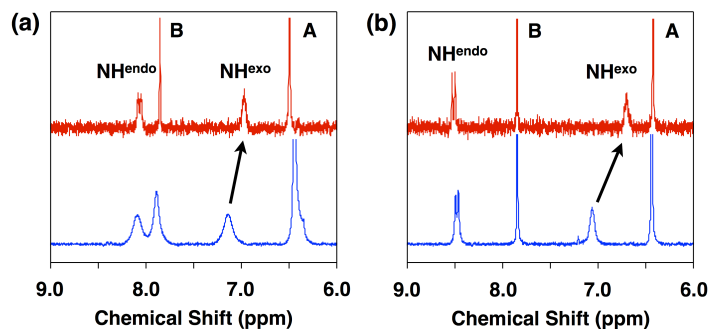


Figure 2. ^1H NMR spectra of (a) (S)-1 and (b) (S)-2 at 70°C in C_6D_{12} at 2.4 mM (blue) and 0.12 mM (red). Signals A and B represent phenyl and thiazole protons, respectively.

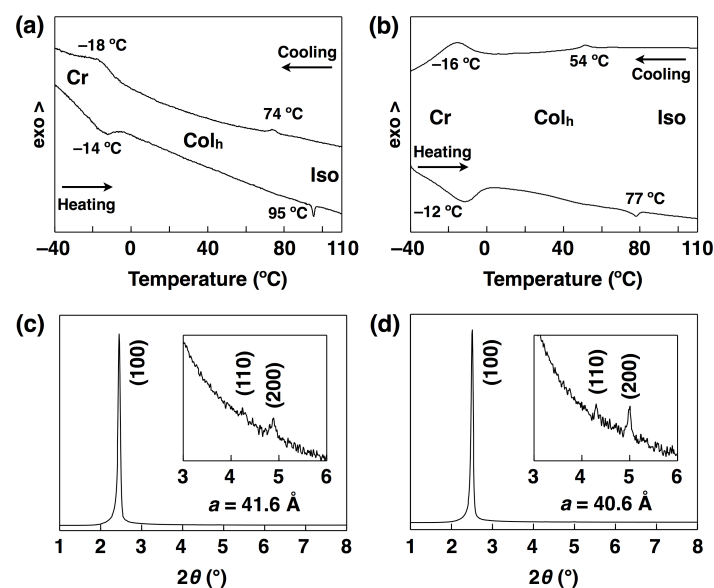


Figure 3. (a, b) Differential scanning calorimetric traces on second heating/cooling of (a) (S)-1 and (b) (S)-2 at a scan rate of 2°C min^{-1} . (c, d) X-ray diffraction patterns of (c) (S)-1 at 93°C and (d) (S)-2 at 75°C .

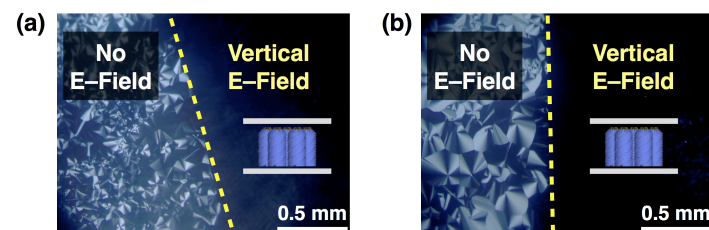


Figure 4. (a, b) Polarized optical microscopic images of (a) (S)-1 at 93°C and (b) (S)-2 at 75°C , sandwiched by glass plates ($5\ \mu\text{m}$ separation) partially coated with ITO electrodes. A rectangular shaped 1.0 Hz AC voltage (120 V peak-to-peak) was applied to the samples. Scale bars represent 0.5 mm.

【3】 空孔を有するカラムナー液晶の大面積電場配向^[2]

(S)-1 及び (S)-2 の液晶サンプルを酸化インジウムスズ (ITO) を蒸着させたガラス基板ではさみ、基

板に対して垂直に電場を印加したところ、扇形のテクスチャが徐々に消失し、暗視野へと変化していく様子が観察された (Figure 4)。これは、カラムが電場に沿って巨視的に配向していることを意味している。さらに、この配向は電場を切った後も1年以上に渡り保持されることも明らかとなった。カラム状自己組織化に伴い、お椀型構造のコア、もしくは側鎖のアミド部位が形成する分子間水素結合ネットワークに由来する双極子がカラム軸方向に発生していると予想され、これらが電場に応答していると考えている。電場によって大環状化合物からなるカラムを一方向に巨視的配向させたのは本研究が世界で初めてであり、物質透過現象の動的な制御を可能にするナノチャネルを開発することができた。

[4] コアのキラリティに由来する立体特異的自己組織化^[3]

ラセミ体化合物の自然分掌は自然界のホモキラリティの起源とも言われており、これまでに酒石酸塩やアミノ酸を始めとする数多くの結晶性有機化合物が調べられてきた^(4,5)。一方、結晶と比較してより分子間相互作用の弱い超分子ポリマー形成 (超分子重合) における自然分掌は報告がほとんどない。本研究で着目した大環状ペプチド **1** 及び **2** はコア部位に不斉炭素有しており、それぞれ C_4 及び C_3 対称構造をとっている。これらの分子がカラム状に自己組織化する際、コア同士が接近するという事実に着目し、超分子重合に伴うキラリティの認識が起こることを期待した。

はじめにサイズ排除クロマトグラフィー (SEC) を、UV 並びに CD 検出器を用いて行い、**1** が形成する超分子ポリマーの分子量の濃度依存性を評価した。条件検討の結果、ポリスチレンゲルカラムを用い、クロロホルム/シクロヘキサン = 1/1 を溶離液として用いた際に、**1** の濃度 ([**1**]) が高いほど溶出

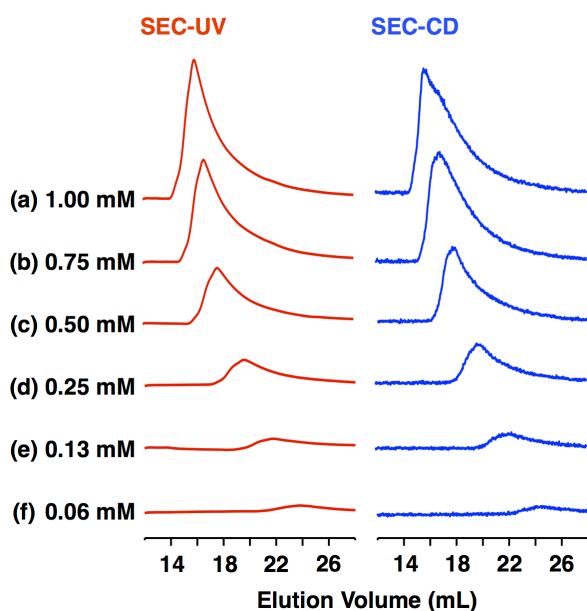


Figure 5. SEC-UV (red curves) and SEC-CD (blue curves) traces (25 °C, 254 nm) of supramolecular polymerization of (*R*)-**1** at [*R*]-**1** = (a) 1.00, (b) 0.75, (c) 0.50, (d) 0.25, (e) 0.13 and (f) 0.06 mM. Loading solvent; C_6H_{12} , eluent; $CHCl_3/C_6H_{12}$ (1/1 in v/v), column; TOSOH TSKgel G3000H_{HR}.

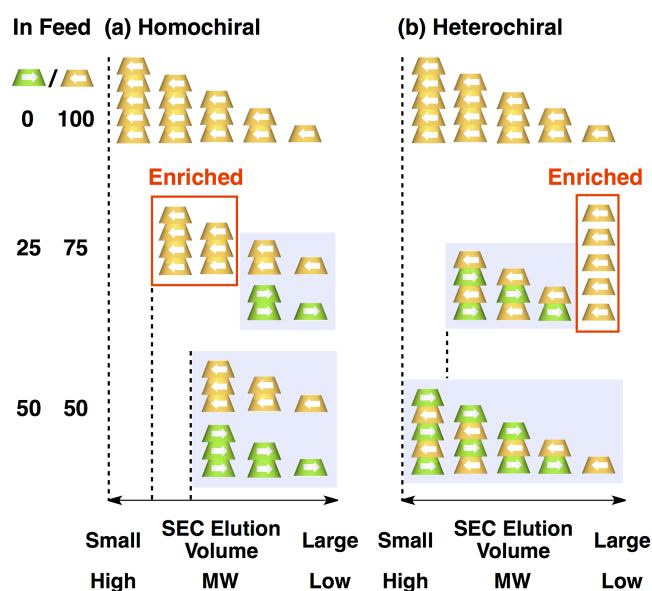


Figure 6. Stereochemical basis for supramolecular copolymerization of enantiomers M_S and M_R . Schematic illustrations for size-exclusion chromatography (SEC) profiles expected for ideal (a) homo- and (b) heterochiral chain growth events.

体積が小さくなる (超分子ポリマーの分子量が大きくなる) ことが明らかとなった (Figure 5)。この結果は**超分子ポリマーの動的な性質**を端的に表している⁽⁶⁾。

次に(S)-**1**、(S)-**2** に対応する光学異性体(R)-**1** 及び(R)-**2** をそれぞれ合成し、これらを混合した際の SEC 上での挙動の変化を観察した。Figure 6 に立体特異的な超分子重合が進行する際に予想される SEC の理想モデルを示す⁽⁷⁾。[**1**] を一定に保ちつつ鏡像異性体過剰率 (ee) を変えていった際、ホモキラルな超分子重合 (Figure 6a) が進行する場合は、ee の値が 0% ($[(S)\text{-}\mathbf{1}]/[(R)\text{-}\mathbf{1}] = 1/1$) に近づくとつれ超分子ポリマーの分子量は減少するはずである。ヘテロキラルな超分子重合 (Figure 6b) が進行する場合も ee の値に応じて超分子ポリマーの分子量は変化するが、 $[(S)\text{-}\mathbf{1}] \neq [(R)\text{-}\mathbf{1}]$ の際に過剰量存在するモノマーが重合せずに残るという特徴がある。超分子重合にエナンチオ選択性が無い場合は、分子量は ee の値に関係なく常に一定であると予想される。

実際に得られた結果を Figure 7 に示す。ee の値が 0% に近づくとつれ、溶出体積が大きくなる (超分子ポリマーの分子量が小さくなる) 現象が見られた。これは Figure 6a に示した通り、ホモキラルな超分子重合が進行していることを示唆している。また、SEC-UV に基づいて SEC-CD を規格化し、 $[(S)\text{-}\mathbf{1}]/[(R)\text{-}\mathbf{1}] = 25/75$ 及び $75/25$ の際のモノマーの ee を算出したところ、ピークの前半部分ではほぼ 100% の ee のモノマーが得られたのに対し、ピークの後半になるにつれて ee の値は 0% に近づい

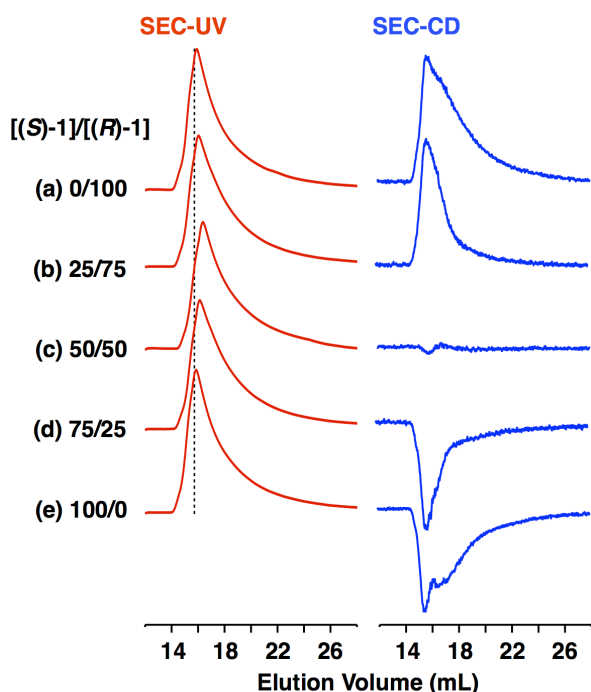


Figure 7. SEC-UV (red curves) and SEC-CD (blue curves) traces (25 °C, 254 nm) of stereochemical supramolecular copolymerization of (S)-**1** and (R)-**1** at molar ratios $[(S)\text{-}\mathbf{1}]/[(R)\text{-}\mathbf{1}]$ of (a) 0/100, (b) 25/75, (c) 50/50, (d) 75/25 and (e) 100/0. Loading solvent; C_6H_{12} , loading concentration; [**1**] = 1.00 mM, eluent; $\text{CHCl}_3/\text{C}_6\text{H}_{12}$ (1/1 in v/v), column; TOSOH TSKgel G3000H_{HR}.

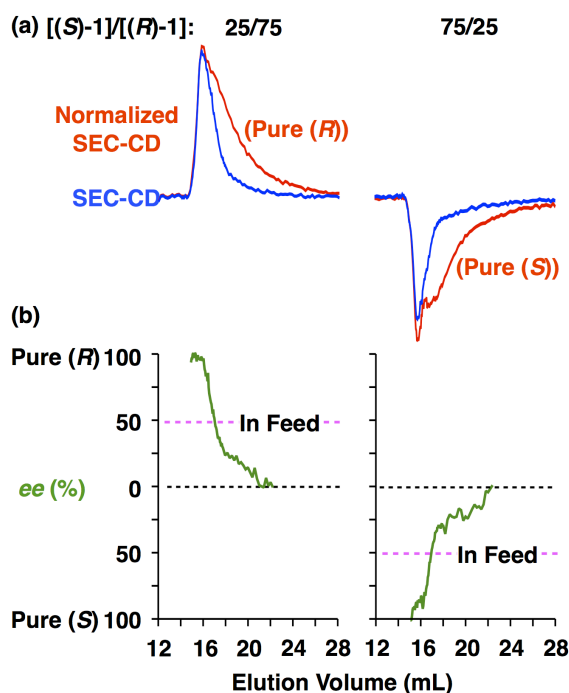


Figure 8. Stereochemical supramolecular copolymerization of (S)-**1** and (R)-**1**. (a) SEC-CD traces (25 °C, 254 nm) at $[(S)\text{-}\mathbf{1}]/[(R)\text{-}\mathbf{1}]$ of 0/100 (red curve) and 25/75 (blue curve) [left] and 100/0 (red curve) and 75/25 (blue curve) [right], normalized by their total SEC-UV peak areas. Loading solvent; C_6H_{12} , loading concentration; [**1**] = 1.00 mM, eluent; $\text{CHCl}_3/\text{C}_6\text{H}_{12}$ (1/1 in v/v), column; TOSOH TSKgel G3000H_{HR}. (b) Changes in enantiomeric excess (ee) with SEC elution volume obtained from (a).

ていった (Figure 8)。これはピークの後半部分では分子量の小さな (*S*) オリゴマーと (*R*) オリゴマーが共存しているためでありホモキラルな超分子重合に特有の現象である (Figure 6a)。以上の結果から、**1** の超分子重合はホモキラルな選択性のもとに進行すると結論づけた。

同様の手法を用い、**2** に関しても超分子重合に伴う立体特異性を検討した。**2** は **1** と比較して分子間水素結合が弱いため、より極性の低い組成であるクロロホルム/シクロヘキサン = 3/7 を溶離液として用いる必要があったものの、**1** と同じ傾向の *ee* 依存性が SEC 上で観測された。

【5】液晶相でのフラーレン認識による有機半導体材料への展開^[4]

カリックスアレーンはそのお椀型構造のため、フラーレンと強く相互作用することが知られている⁽⁸⁾。本研究では、大環状ペプチド **1** が同様にお椀型構造を有することに着目し、液晶相におけるフラーレンとの相互作用を期待した。

はじめに、固体状態における (*S*)-**1** と種々のフラーレン (PC₆₁BM、C₆₀、PC₇₁BM 及び C₇₀) との相互作用を検討した。複合化は、両者のトルエン溶液をモル比 1 : 1 で混合し、自然蒸発させることで行った。DSC 測定の結果、いずれのフラーレン誘導体の場合においても液晶相温度の大幅な安定化が観察された。POM 観察および XRD 測定の結果、すべての複合体がヘキサゴナルカラムナー液晶相を形成していることが明らかとなった。これらの結果は、フラーレンが **1** の形成するカラム状構造を乱すことなく、特定の空間に選択的に取り込まれていることを示唆している⁽⁹⁾。中でも特に **1** との混和性が良好であった PC₆₁BM について、複合体の構造をより詳細に検討した。

PC₆₁BM との混合比を連続的に変化させた一連の複合体サンプルについて XRD 測定を行ったところ、混合比 1 : 1 を境に相分離が生じ、PC₆₁BM の結晶ドメインに由来するピークが観測された。これは **1** が PC₆₁BM と 1 : 1 の化学量論比で複合体を形成していることを示唆している。剪断を印加し、一方向にカラムの向きを配向させた 1 : 1 複合体サンプルの二次元 XRD 測定を行ったところ、カラムの軸方向の規則構造に由来するピークが観測された。**1** がフラーレンを包み込み、交互に集積することでカラム状構造体を構築していると考えている。

複合体中のフラーレン間で電子のホッピング伝導が起こることを期待し、時間分解マイクロ波伝導度測定法を用いてこの液晶材料の電荷輸送特性を評価した^(10,11)。液晶サンプルに剪断を印加することで一方向にカラムを配向させ、カラムの軸と平行及び垂直な方向の移動度をそれぞれ測定した。その結果、前者は後者に比べ、2.2 倍高い移動度を有することが明らかとなった。

【2】で述べたように、**1** の一次元自己組織化により形成される液晶性ナノチューブは、電場の印加によって動的にその配向を制御することができる。PC₆₁BM 複合体サンプルの電場応答性を観察したところ、同様にカラムが電場に沿って配向する様子が観察された。これはすなわち**外場によって導電異方性を動的に制御できた**ことを意味している。

【6】 結言

一次元自己組織化能を有する大環状ペプチド **1**、**2** を開発した。これらは剛直なお椀型構造を有しており、電場応答性の多孔質膜液晶を形成する。また、その溶液中での超分子重合は、自己組織化する際に互いのキラリティを認識することでホモキラルな選択性のもとに進行する。さらに、空孔内にフラーレンを取り込むことによって、導電異方性を動的に制御可能な有機半導体材料へと展開することができる。

【7】 発表論文

- [1] Tsukamoto, S.; Sato, K. *et al. Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2010**, *20*, 3341–3343.
- [2] Sato, K. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2011**, *133*, 13767–13769.
- [3] Sato, K. *et al. Chem. Sci.* **2014**, *5*, 136–140.
- [4] Sato, K. *et al. to be submitted.*

【8】 参考文献

- (1) Bertram, A. *et al. Nat. Prod. Rep.* **2007**, *24*, 18–30.
- (2) Bertram, A. *et al. Tetrahedron* **2003**, *59*, 6979–6990.
- (3) Comba, P. *et al. Chem. Eur. J.* **2008**, *14*, 4393–4403.
- (4) Pasteur, L. *C. R. Hebd. Seances Acad. Sci.* **1848**, *26*, 535–539.
- (5) Jacquws, J. *et al. In Enantiomers, Racemates, and Resolutions*; Krieger Publishing Company, Malabar, FL, 1994.
- (6) Aida, T. *et al. Science* **2012**, *335*, 813–817.
- (7) Ishida, Y. *et al. J. Am. Chem. Soc.* **2002**, *124*, 14017–14019.
- (8) Atwood, J. L. *et al. Nature* **1994**, *368*, 229–231.
- (9) Matsuo, Y. *Fullerenes, Nanotubes, and Carbon Nanostructures* **2010**, *18*, 338–352.
- (10) Saeki, A. *et al. Philos. Mag.* **2006**, *86*, 1261–1276.
- (11) Saeki, A. *et al. Adv. Mater.* **2008**, *20*, 920–923.