

## 論文内容の要旨

題目： Heterogeneous Metal Assembly Templated by Cyclic Peptides

(環状ペプチドを鋳型とする異種金属集積化)

氏名： 岡田 朋子

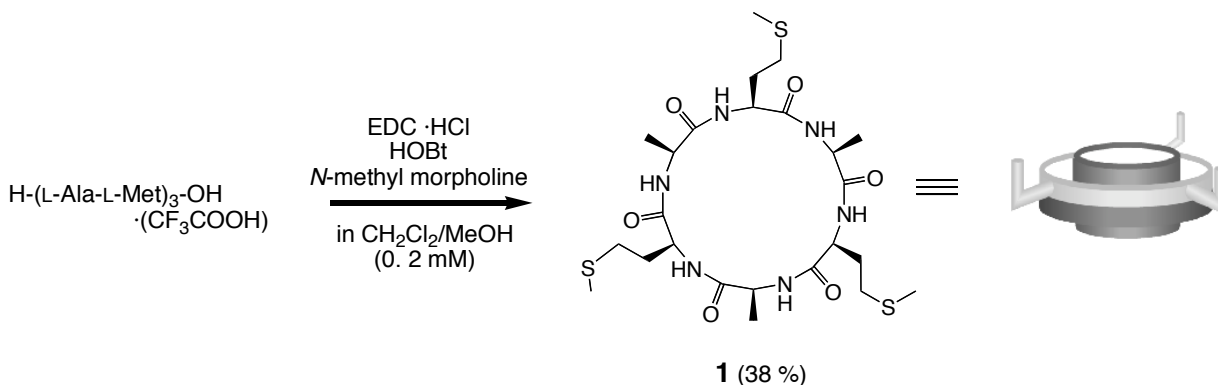
### 【序】

異種金属イオンの自在配置は、機能性分子の構築における重要な課題の一つである。目的とする金属配置を得る方法として、その配置情報を持つテンプレート分子を用いる方法が、近年注目を集めている。著者はアミノ酸残基に金属配位部位を持つペプチドに注目し、異種金属イオンの集積場を構築することにした。ペプチドは、アミノ酸を構成単位とする分子であり、目的の位置に金属配位部位を導入することにより、金属配置情報を組み込むことが可能な分子である。特に、環状ペプチドは、その環サイズや構成アミノ酸の配列を変えることにより、アミノ酸側鎖ばかりでなく、環状に並んだペプチド骨格由来のアミド基を利用した異種金属イオンの配置制御を可能にすると考えた。本研究では、新たな機能性ペプチド金属錯体を構築することを目的とし、アミノ酸側鎖に金属配位部位を導入した環状ペプチドをテンプレートとして用い、異種金属イオンの集積化による配置制御を試みた。

### 【デザインと合成】

本研究で、異種金属イオン配列のテンプレートとしてデザインした環状ペプチド **1** とその合成ルートを Fig. 1 に示す。金属配位部位となりうるチオエーテル基を側鎖に持つ L-メチオニン(L-Met)と L-アラニン(L-Ala)を交互に配置した環状ヘキサペプチド *cyclo(L-Ala-L-Met)<sub>3</sub>*、**1** は、soft な硫黄配位原子と、ペプチド骨格由来の hard なカルボニ

ル酸素配位原子を持つ。これら二種類の配位原子はそれぞれ、soft な遷移金属イオン、hard なアルカリ、アルカリ土類、ランタノイドイオンなどを捕捉することが期待された。この環状ペプチドの L-Met 側鎖と L-Ala の側鎖は交互に並んでおり、ペプチド骨格が形成する環の上下の面は非等価である。(Fig. 1 では模式的に灰色と黒色で区別してある。内側の黒色で示した環は、アミドカルボニル基の環状配列を表している。)

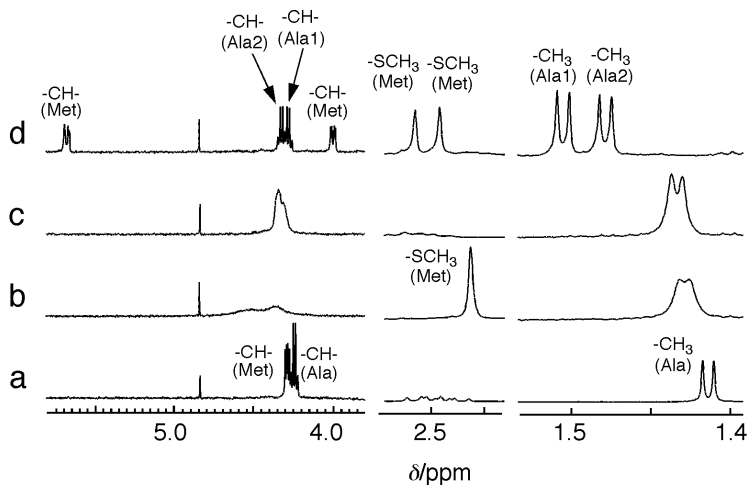


**Fig. 1** Synthesis of cyclic hexapeptide, **1**, used in this study.

環状ペプチド **1** は、直鎖状のペプチドを分子内環化することによって合成した。まず、ペプチド自動合成機を用いた Fmoc 固相合成法により、直鎖状のペプチド H-(L-Ala-L-Met)<sub>3</sub>-OH · (CF<sub>3</sub>COOH) を合成した。引き続き、希釈条件下 (0.2 mM) で分子内環化反応を行い、目的の環化体 **1** を 38% の収率で得た。これは、<sup>1</sup>H, <sup>13</sup>C NMR、ESI-TOF mass、元素分析により同定した。

### 【環状ペプチドをテンプレートとした Ag<sup>+</sup> 及び Ca<sup>2+</sup> イオンのヘテロ集積化】

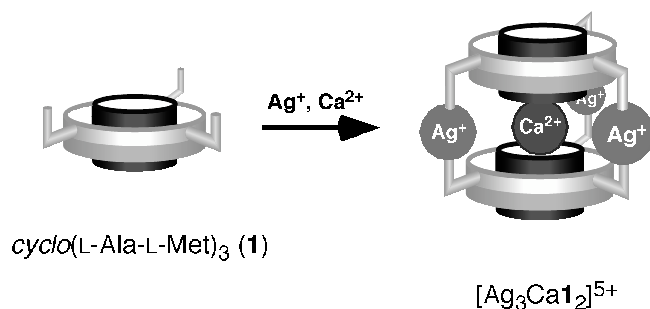
まず、チオエーテル基と直線二配位型構造をとる電荷数の小さい Ag<sup>+</sup> イオンと、環状ヘキサペプ



**Fig. 2** <sup>1</sup>H NMR spectra of (a) cyclic hexapeptide (**1**) only, (b) **1** + Ag(CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>) (1.5 equiv), (c) **1** + Ca(CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0.5 equiv), and (d) **1** + Ag(CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>) (1.5 equiv) + Ca(CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0.5 equiv) in acetone-*d*<sub>6</sub>/CD<sub>3</sub>OD (5:1) [**1**] = 2 mM at 293 K.

チドのアミドカルボニル酸素と相互作用をすることが知られている  $\text{Ca}^{2+}$  イオンの組み合わせについて、 $^1\text{H}$  NMR により検討した (Fig. 2)。環状ペプチド  $\text{cyclo}(\text{L-Ala-L-Met})_3$  **1** に対して 0.5 当量の  $\text{Ca}^{2+}$  イオンを含む  $\text{acetone-}d_6/\text{CD}_3\text{OD}$  (5:1) 溶液に  $\text{Ag}^+$  イオンを添加していくと、環状ペプチド由来のシグナルは先鋭化を伴ってシフトし、 $\text{Ag}^+$  イオンが環状ペプチドに対して 1.5 当量に達した時点でスペクトルは収束した (Fig. 2d)。また、Met 側鎖のシグナルに低磁場シフトが見られ、チオエーテル基と  $\text{Ag}^+$  イオン間の配位結合が示唆された。一方、1.5 当量の  $\text{Ag}^+$  イオンを含む **1** の溶液に  $\text{Ca}^{2+}$  イオンを逆滴定しても、同様に  $1/\text{Ag}^+/\text{Ca}^{2+} = 2:3:1$  の組成になった時にスペクトルは収束し、Fig. 2d と同じものが得られた。この溶液の ESI-TOF mass スペクトルは、 $[\text{Ca}\cdot\text{Ag}_3\cdot\mathbf{1}_2\cdot(\text{CF}_3\text{SO}_3)_4]^+$  に帰属されるシグナルを示した。これらの結果から、二つの環状ペプチド (**1**) が、三つの  $\text{Ag}^+$  イオン及び一つの  $\text{Ca}^{2+}$  イオンと錯形成することにより、カプセル型四核錯体を形成していることが示された (Fig. 3)。また、 $\text{Ca}^{2+}$  イオンがカルボニル酸素との配位結合によってカプセル型ダイマー錯体の内部中心に包接されていることは、X 線結晶構造解析の結果からも支持された。金属イオンを加えないときの環状ペプチド **1** の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルには、構成単位である L-Ala-L-Met に由来する 1 セットのシグナルが観察され (Fig. 2a)、溶液中の対称性の高い構造が示された。一方、ダイマー錯体 ( $1/\text{Ag}^+/\text{Ca}^{2+} = 2:3:1$ ) の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルには、L-Ala-L-Met 骨格を示す 2 セットのシグナルが 1:1 の積分比で現れた (Fig. 2d)。これは、二つの環状ペプチド **1** が、環状構造の対称性を維持したまま  $\text{Ag}^+$  及び  $\text{Ca}^{2+}$  イオンと錯形成し、head-to-tail 型にダイマー化してカプセル型錯体となるためであることが、COSY 及び NOESY スペクトルより明らかになった。

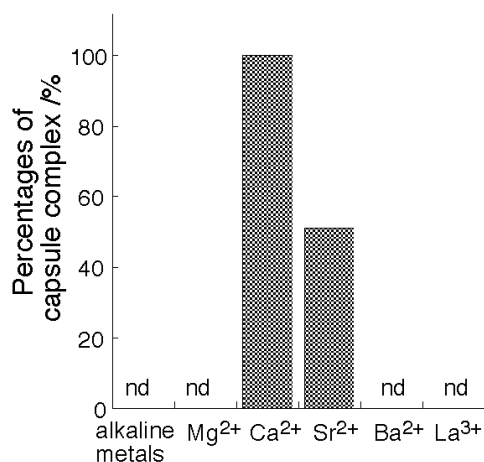
このようなダイマー錯体は、 $\text{Ag}^+$  イオンのみ、または  $\text{Ca}^{2+}$  イオンのみの添加では形成されず、 $\text{Ag}^+$  イオンと  $\text{Ca}^{2+}$  イオンが協奏的に集積化することによって初めて形成されることが明らかになった。 $\text{Ag}^+$  イオンと同様に、チオエーテル基と直線二配位型構造をとりうる  $\text{Hg}^{2+}$  イオンについても検討したが、ダイマー化は起こらなかった。正電荷どうしの反発が、ダイマー錯体の安定性を支配する一つの要因であることが示唆された。



**Fig. 3** Heterogeneous metal assembly accompanying dimerization of cyclic hexapeptides.

### 【イオン包接の選択性】

次に、ダイマー錯体の内部に包接されるイオンの選択性について検討した。環状ペプチド **1** と  $\text{Ag}^+$ イオンを 2:3 の比で含む溶液に、アルカリ金属イオン( $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ ,  $\text{Cs}^+$ )、アルカリ土類金属イオン( $\text{Mg}^{2+}$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Sr}^{2+}$ ,  $\text{Ba}^{2+}$ )、ランタノイドイオン( $\text{La}^{3+}$ )、アンモニウムイオン( $\text{NH}_4^+$ )を加えたときの、カプセル型ダイマー錯体の包接挙動を  $^1\text{H}$  NMR と ESI-TOF mass で調べた(Fig. 4)。その結果、環状ペプチドに対して 0.5 当量の  $\text{Ca}^{2+}$ イオンを添加したときに、定量的にダイマー錯体が形成する条件において、 $\text{Sr}^{2+}$ イオンは 51%のカプセル型ダイマー錯体を形成したが、他のイオンでは同様の錯体の形成は見られなかった。したがって、このカプセル型ダイマー錯体には、 $\text{Ca}^{2+}$ イオンが高選択的に包接されることがわかった。このように、イオン包接の選択性は、イオンの正電荷数とサイズの両方に依存していると考えられた。



**Fig. 4** Effects of various ions on the  $\text{Ag}^+$ -mediated capsule complex formation.  $[\mathbf{1}] = 2 \text{ mM}$ ,  $[\text{Ag}^+] = 3 \text{ mM}$ ,  $[\text{M}] = 1 \text{ mM}$  in acetone- $d_6$ / $\text{CD}_3\text{OD}$  (5:1) at 293 K. Alkaline metals include  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Rb}^+$ , and  $\text{Cs}^+$ . The percentages of the capsule complex formed were calculated from the integral ratio of  $^1\text{H}$  NMR signals of methyl (Ala) protons. (nd: not detected) Ionic radii with coordination number 6:  $\text{Li}^+$  0.76,  $\text{Na}^+$  1.02,  $\text{Mg}^{2+}$  0.72,  $\text{Ca}^{2+}$  1.00,  $\text{Sr}^{2+}$  1.12,  $\text{Ba}^{2+}$  1.35,  $\text{La}^{3+}$  1.03 Å.

### 【結論】

環状ヘキサペプチドをテンプレートとし、異種金属イオンを一分子内に配列することができた。 $\text{Cyclo}(\text{L-Ala-L-Met})_3$  は、 $\text{Ag}^+$ イオンと  $\text{Ca}^{2+}$ イオンを同時捕捉することにより、定量的にカプセル型の四核ダイマー錯体を形成した。また、内部に包接されるイオンには、高い選択性があることを明らかにした。今後、環サイズやアミノ酸の種類などの組み合わせにより、様々な異種金属イオンの配列が可能になると期待される。