

論文の内容の要旨

論文題目 7-アザビシクロ [2.2.1] ヘプタン

アミドの非平面性と新規構造単位としての応用

氏名 尾谷 優子

【はじめに】アミド結合はタンパク質や生理活性物質の基本となる結合であり、基底状態では平面構造を持つとされている。しかし、自然界にはアミド結合の窒素-カルボニル炭素結合が回転したねじれ型アミドや、アミド窒素が平面性を失い sp^3 性を有する窒素ピラミッド型アミドといった非平面アミドが存在する。当教室では、構造的に単純な非平面アミドとして、二環性構造を持つ7-アザビシクロ [2.2.1] ヘプタンアミドが置換様式に関わらず非平面を起こす骨格であると提唱し、このものが結晶構造において顕著にピラミッド化した構造をとることを明らかにした (Figure 1)。¹⁾ そこで筆者は、本アミドの溶液構造を調べ、非平面化の一般性や構造因子についての知見を得ることを目的として研究を開始した。次に、本二環性構造を非天然アミノ酸の骨格として利用し、非平面ペプチド結合を持つホモオリゴマーが規則構造を誘起しうる事を明らかにした。

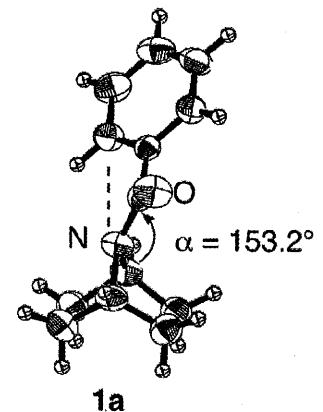
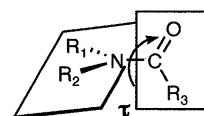


Figure 1. Crystal structure of bicyclic amide.

1. 7-アザビシクロ[2.2.1]ヘプタンアミドの結晶構造

Figure 2 に示す様々なアミドの結晶構造のデータを **Table 1** にまとめた。アミドの非平面性は、窒素ピラミッド化を表す角度 α (**Figure 1**) およびアミド結合のねじれ角の絶対値 $|\tau|$ で表すことができる。 α は、二環性アミド **1a** で 153.2° 、単環性の構造類縁体である5員環のピロリジンアミド **5b** で 171.3° であった。後者の面外角 ($180^\circ - \alpha$) は 8.7° であり少しピラミッド化しているのに対し、前者は 26.8° と窒素ピラミッド化が大きく促進されている。二環性アミドでは、アミド窒素とアルキル炭素が作る CNC 結合角がエタノブリッジの束縛により狭められていることが1つの理由と考えられる。しかし、4員環アミド **7c** は二環性アミドよりも小さい CNC 角をもつにもかかわらず α は 161.0° であった。一方、ねじれ角 τ については、二環性アミドの $|\tau|$ が単環性アミドのそれよりも大きかった。

Table 1. Crystal structural data of cyclic amides.

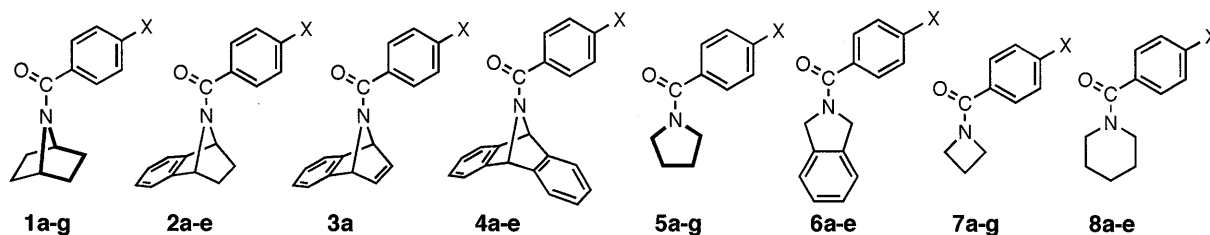


	α ($^\circ$)	$ \tau $ ($^\circ$) ^a	CNC angle ($^\circ$) ^a	N-C(O) bond (Å) ^a
1a^b	153.2	15.5(3)	97.2(2)	1.356(3)
1c	149.0	9.8(3)	97.1(1)	1.361(2)
1d	152.4	8.5(4)	97.6(2)	1.352(4)
1e^{b, c}	150.2	13.0(5)	96.9(2)	1.354(4)
	153.8	6.9(5)	97.8(2)	1.350(4)
4a^b	150.6	10.9(6)	96.6(2)	1.343(4)
5b	171.3	3.0(3)	111.5(2)	1.345(3)
5e^b	172.5	7.0(4)	111.6(2)	1.337(2)
7c	161.0	4.9(6)	94.6(3)	1.339(4)
8d	168.2	9.5(4)	113.0(2)	1.360(3)

^a Standard deviations are shown in parentheses.

^b Reference (1).

^c Two kinds of molecules are involved in a unit cell.



a: X = H, b: X = OCH₃, c: X = CH₃, d: X = Cl, e: X = NO₂, f: X = F, g: X = CN.

Figure 2. Bicyclic and monocyclic amides in this study.

2. 温度可変ダイナミック NMR による溶液構造の評価

溶液中のアミド結合の構造に関する手がかりとして、アミドのシス-トランス異性化におけるアミド結合回転の障壁の大きさが挙げられる。非平面アミドでは、アミドの共鳴構造の寄与の減少のためその2重結合性が減少し、回転障壁が低下することが予想される。そこで温度可変ダイナミック NMR の手法を用いて様々な単環性及び二環性アミド (**Figure 2**) のアミド結合の回転障壁を測定した。測定にはブリッジヘッド (橋頭位) プロトンの非等価性を利用し、テトラクロロエタン溶媒中、コアレス温度法により ΔG_c^\ddagger を算出

した。

まず各種の無置換ベンズアミド体 ($X = H$) について検討したところ、7-アザビシクロ [2. 2. 1] ヘプタンアミド誘導体 (1a, 2a, 3a, 4a) は、ピロリジンアミド (5a) と比較して有意に回転障壁エネルギーが低下した (Figure 3)。また線形解析 (line shape analysis) により得られたエネルギー値もコアレス温度法による値と良く一致した。一方、ベンゼン環上パラ位に種々の置換基 (X) を有するベンズアミド誘導体についても回転障壁を調べたところ、二環性アミド誘導体はベンゼン環上の置換基に関わらず単環性アミド化合物よりも回転障壁が低かった。よって、溶液中においても7-アザビシクロ [2. 2. 1] ヘプタンのアミド窒素がベンゼン環上の置換基に関わらず非平面化を起こすことが示唆された。回転障壁は $5a > 7a > 1a$ の順に小さくなり、この順に非平面化が促進されていると予想される。

また、アミドの回転障壁は置換基のハメットの σ_p^+ 値と良好な直線自由エネルギー関係を示し、非平面アミドにおいても通常のアミドと同様な置換基の電子効果を受けることが分かった。

3. 7-アザビシクロ [2. 2. 1] ヘプタンアミドの非平面化の構造因子の考察

一連の化合物について分子軌道計算 (B3LYP/6-31G*レベル) による構造最適化を行ったところ、結晶中、溶液中で見られた窒素ピラミッド構造をよく再現した。二環性アミド化合物では CNC 角の制限 (結合角歪み) およびブリッジヘッドプロトンとアミドカルボニル酸素やベンゼン環との立体反発 (アリル位型歪み) という2つの要因が非平面化を促進していると考えられる。アミド基をベンゾイル、アセチル、ホルミルとした化合物の計算構造 (Figure 4) では窒素ピラミッド化とアミドのねじれが互いに相関している様子が分かった。置換基 R のサイズを小さくするとピラミッド化とねじれはともに減少したが、7-アザビシクロ [2. 2. 1] ヘプタン化合物の窒素ピラミッド化はホルムアミドの場合でも依然として大きく、本化合物が本質的に窒素ピラミッド化を示す骨格であることが分かる。²⁾

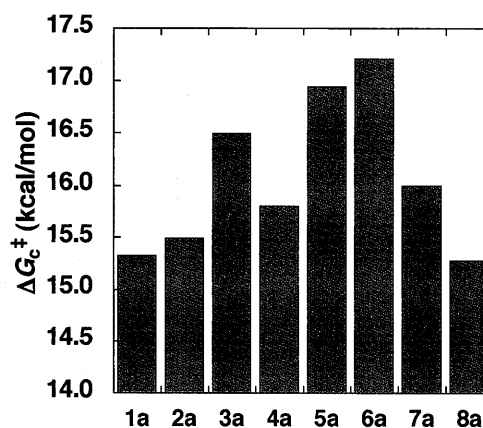


Figure 3. Rotational barriers of amides in solution, estimated by the coalescence temperature method.

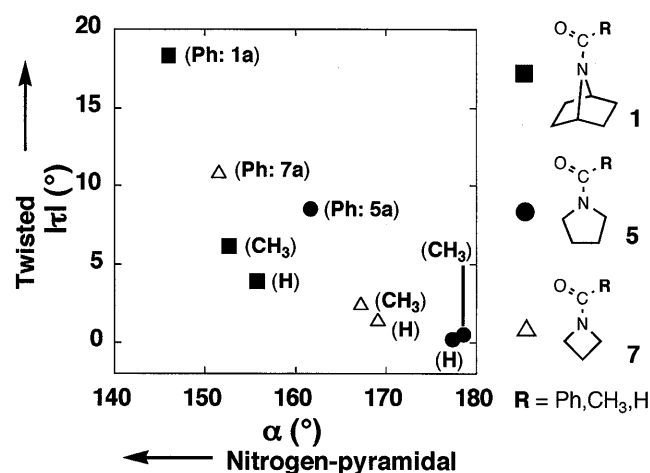
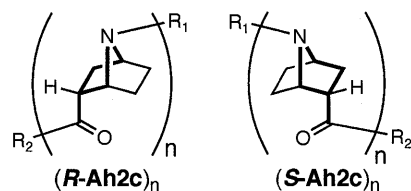


Figure 4. Correlation between nitrogen-pyramidalization (α) and amide twisting ($|\tau|$), calculated at the B3LYP/6-31G* level.

4. 7-アザビシクロ [2. 2. 1] ヘプタン化合物の新規構造単位としての応用

天然に存在するペプチドやタンパク質の二次構造の形成には、ペプチド結合の平面構造が重要な役割を果たしていると考えられているが、溶液中で非平面アミド結合を持つホモペプチドが規則構造を取りうるかということに興味をもたれる。そこで7-アザビシクロ [2. 2. 1] ヘプタン骨格を非平面アミドユニットとして利用し、光学活性なβ-アミノ酸誘導体 **R-Ah2c** および **S-Ah2c** (Figure 5) を設計、合成した。二環性骨格は *N*-Boc-pyrrole と methyl 3-bromopropiolate との Diels-Alder 反応を用いて構築し、アミノ酸のエナンチオマー分割は camphorsultam を導入し再結晶を行うことで達成した。ホモオリゴマー (**R-Ah2c**)_n および (**S-Ah2c**)_n を Fmoc 固相法 (n = 5,8) および Boc 液相法 (n = 2,3,4,5) により合成した。



n=1-5: R₁=H·HCl, R₂=OH; HCl·(**Ah2c**)_n
n=5,8: R₁=H, R₂=NH₂; (**Ah2c**)_n-NH₂.

Figure 5. Ah2c peptides.

これらの円二色性 (CD) スペクトルをメタノール中で測定

したところ、大きなモルダ円率 ([θ]) を持つ特徴的な波形が得られた (Figure 6)。CD の極大、極小値は 198.0 nm および 217.0 nm に存在していた。紫外吸収スペクトルを測定したところモノマーおよびオリゴマーで 200.0 nm にピークが現れた (HCl·**S-Ah2c**: ε~4000, HCl·(**S-Ah2c**)₄: ε~23000)。また、実測 CD スペクトルのバンド (成分) 分解の結果から、オリゴマーで出現している 200 nm 付近の CD は π-π* 遷移の成分であり、217 nm 付近の CD は π-π* 遷移と光学禁制な n-π* 遷移の成分が寄与していることが分かった。モノマー (HCl·**S-Ah2c**) では 215 nm より長波長部分に CD シグナルが見られなかった (データ未掲載) ことから、n-π* 遷移の CD は、隣接するアミドカルボニルの π-π* 遷移との相互作用により出現すると考えられる (Schellman's mechanism)。

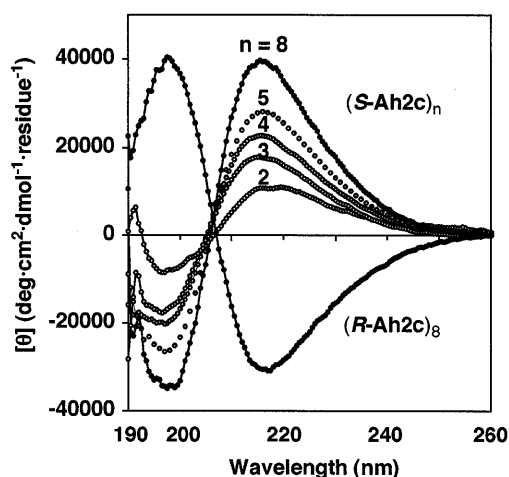


Figure 6. CD spectra of Ah2c peptides in methanol at 20°C.

この機構では遷移モーメントが規則的に配置されることが重要であり、α-アミノ酸のαヘリックスの CD シグナル (222 nm) はこの機構により出現することが知られている。よって、**Ah2c** オリゴマーは溶液中にて何らかの規則的な構造、すなわちヘリカルな構造を取っていることが示唆された。また、π-π* 遷移の成分についても励起子モデルを用いて定性的に考察した結果、筆者が計算で予測したエネルギー的に最安定なヘリックス構造を取っている可能性を支持した。

ユニット数 n の増加に従って 1 残基あたりに換算した CD 強度は増大した。また 3 量体以上では 206.5 nm 付近に isodichroic point が見られことから、ヘリックス構造の構築には少なくとも 3 量体以上が必要であり、ペプチド鎖が長くなるにつれて規則構造が安定化されることが示唆される。

ペプチドの二次構造の形成に重要であると考えられてきたアミドの平面構造であるが、今回の研究により、平面構造や分子内水素結合による安定化作用を持たないアミノ酸のホモペプチド

ドが規則構造を形成しうることを示した。この結果がペプチド分子設計の新たな指標となることを期待する。

[参考文献]

- (1) Ohwada, T.; Achiwa, T.; Okamoto, I.; Shudo, K. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 865-868.
- (2) Otani, Y.; Nagae, O.; Naruse, Y.; Inagaki, S.; Ohno, M.; Yamaguchi, K.; Yamamoto, G.; Uchiyama, M.; Ohwada, T. *J. Am. Chem. Soc.* **2003**, *125*, 15191-15199.