



Title	シクロプロパン型アミノ酸を用いた配座制御による膜透過性環状ペプチドの創製と三次元構造-膜透過性相関の解明
Author(s)	山崎, 祐季
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(薬科学)
Dissertation Number	甲第16792号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16792
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99637
Type	doctoral thesis
File Information	Yuki_Yamazaki_review.pdf, 審査の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学 位 論 文 審 査 の 要 旨

博士の専攻分野の名称 博士（薬科学） 氏 名 山 崎 祐 季

審査担当者	主 査	准教授	渡 邊 瑞 貴
	副 査	教 授	市 川 聡
	副 査	教 授	長 友 優 典
	副 査	講 師	勝 山 彬

学 位 論 文 題 名

シクロプロパン型アミノ酸を用いた配座制御による
膜透過性環状ペプチドの創製と三次元構造-膜透過性相関の解明

博士学位論文審査等の結果について（報告）

中分子環状ペプチドは、高い構造多様性と比較的広い分子表面を併せ持ち、タンパク質間相互作用に基づく分子認識が可能であることから、“アンドラッグブル”な創薬標的に対する有望な分子として期待されている。しかし、優れた薬理活性と体内動態を両立する合成環状ペプチドの創出はいまだ困難であり、特に低い細胞膜透過性が大きな課題となっている。

環状ペプチドの膜透過性には主鎖の三次元構造（配座）が深く関与することが知られているが、配座はアミノ酸配列や側鎖構造のわずかな違いによっても容易に変化するため、配座と膜透過性との関係を体系的に理解することは難しい。そこで著者は、環状ペプチド主鎖にシクロプロパン型アミノ酸を導入して配座を制御することで、主鎖配座と膜透過性との関係性をより直接的に明らかにすることを目指した。

著者の所属研究室ではこれまでに、シクロプロパンの構造特性により立体異性体ごとに主鎖配座を制御可能な α, δ -二置換シクロプロパン δ -アミノ酸 ($\text{Cp}\delta\text{AA}$) を環状ヘキサペプチドに導入すると、 $\text{Cp}\delta\text{AA}$ の立体化学に応じて主鎖配座が大きく変化することを見出している。中でも、シス形で $\text{N}-\text{C}\delta$ および $\text{C}\alpha-\text{C}(\text{O})$ 結合が folded 配座をとる ($\alpha S, \beta R, \gamma S, \delta R$)-異性体は、環状ペプチド主鎖を屈曲した“閉じた”配座へと制御し、細胞膜透過性を大幅に向上させた。

本論文ではこの知見を基に、($\alpha S, \beta R, \gamma S, \delta R$)- $\text{Cp}\delta\text{AA}$ を組み込んだ環状ヘキサペプチド 48 種からなるフォーカスライブラリーを設計・合成した。先行研究のアミノ酸配列を基本骨格とし、親水性アミノ酸の種類や導入位置を変化させた配列、および疎水性アミノ酸のみからなる配列を系統的に設計することで、疎水性 (CLogP) に幅を持たせた。本ライブラリーでは、 $\text{Cp}\delta\text{AA}$ によって主鎖配座がある程度一定に制御される一方で、配列の違いに応じて配座分布や膜透過性に差異が生じると考え、主鎖配座と膜透過性との関係を評価した。

まず、(*R*)-epichlorohydrin を出発原料として ($\alpha S, \beta R, \gamma S, \delta R$)- $\text{Cp}\delta\text{AA}$ を立体選択的に合成し、これを用いて固相合成および液相環化により目的の環状ペプチドを得た。合成した環状ペプチドの膜透過性を並行人工膜透過性試験により評価した。

結果、膜透過性は CLogP 値と単純な単調相関を示さず、一定値を超えると低下することが明らかとなった。一方で、膜透過性は CLogP 値よりも HPLC における保持時間と良好な相関を示した。また、親水性アミノ酸を 1 残基含むだけで、CLogP 値が同程度であっても膜透過性が約 10 分の 1 に低下することも明らかとなった。さらに、Cp δ AA を鎖状 δ -アミノ酸やプロリンに置換した場合には膜透過性が消失し、膜透過性の獲得には疎水性に加えて主鎖配座の制御が不可欠であることが示唆された。

次に、膜透過性の異なる Cp δ AA 含有環状ペプチドについて NMR 解析を行った結果、DMSO-*d*₆ および CDCl₃ 中のいずれにおいても、Cp δ AA と対向するアミノ酸残基が近接した“閉じた”主鎖配座を共通してとることが明らかとなった。溶媒間で構造を重ね合わせた際の主鎖重原子の RMSD は小さく、膜透過性に最大 100 倍の差があるペプチド間でも主鎖配座はほぼ同一であった。

さらに、膜透過性が 10 倍または 100 倍異なる 3 種のペプチドについて、REST/REUS 法を用いた分子動力学シミュレーションを行い、水中および膜内における主鎖配座分布を解析した。水中ではいずれも多様な配座を示したが、ペプチド間で配座分布はほぼ一致していた。膜内では共通する 2 つのクラスターが観測され、高透過性ペプチドはこれらに収束した一方、他のペプチドでは追加のクラスターが存在した。注目すべき点として、水中と膜内で配座分布は異なるものの、各環境において膜透過性が大きく異なるペプチド間で主鎖配座分布が共通していることが示された。また、本シミュレーションにおいて、主鎖配座分布が同一であっても、側鎖構造に起因する水分子との相互作用に違いが認められた。すなわち、側鎖構造に由来して膜内での脱水和挙動が異なり、この違いが膜透過性の差として現れることが示唆された。

以上のように、本論文は、主鎖配座を統一的に制御した環状ペプチド系を用いることで、膜透過性における主鎖と側鎖の役割を切り分けて評価し、これまで主鎖配座に偏りがちであった膜透過性と立体構造の議論に対して、側鎖構造に起因する脱水和過程の重要性と、その分子機構について一つの見解を与えたものである。これらの成果は、膜透過性環状ペプチドの合理的設計および膜透過性予測手法の構築に資する基盤的知見を提供するものと評価できる。

これを要するに、著者は、環状ペプチドの三次元構造と膜透過性との関係について、主鎖配座を制御した分子系を用いることにより、側鎖構造に起因する水分子との相互作用が膜透過性の差を生むという新知見を得たものであり、中分子環状ペプチドの合理的設計に対して貢献するところ大なるものがある。

よって著者は、北海道大学博士（薬科学）の学位を授与される資格あるものと認める。