

## 審査の結果の要旨

氏名 藤後 貴也

藤後貴也は、「チロシンを起点としたペプチドの構造多様化法」というタイトルで、以下の研究を行った。

【研究背景・目的】ペプチドは、タンパク質間相互作用阻害剤などの難関医薬標的へとアプローチしうる中分子モダリティの一つとして近年注目を集めている。しかしながら天然アミノ酸から構成されるペプチドは、体内安定性や膜透過性の低さなど薬物動態面での課題があり、広汎な医薬品への応用が難しいとされてきた。この解決を目指し、非天然型構造（大環状骨格や非天然アミノ酸など）を化学合成によって導入する施策が検討されてきた。特に合成後期において高化学選択的反応を用いる構造多様化を行うことができれば、活性が担保された薬物構造を起点とした構造展開が可能になるため、医薬開発面での魅力が大きい。当研究室では、オキシム試薬を用いたチロシン（Tyr）選択的タンパク質化学修飾反応の開発を行っており、藤後はこの Tyr-オキシム付加体を足掛かりとしたペプチド構造多様化法の開発に着手した。

【方法・結果】研究の進め方として、まずモデル化合物（Tyr1 残基のオキシム付加体）を用いて、本脱芳香族化構造に対する様々な反応形式の適用可否を評価した。次に適用できた反応形式を生理活性ペプチドへと適用し、側鎖無保護・水溶性ペプチドでも構造多様化を行えるかどうかを確かめた。

これまでに当研究室では、Kool 触媒(図 1 中の構造)およびフェニルヒドラジンで Tyr-

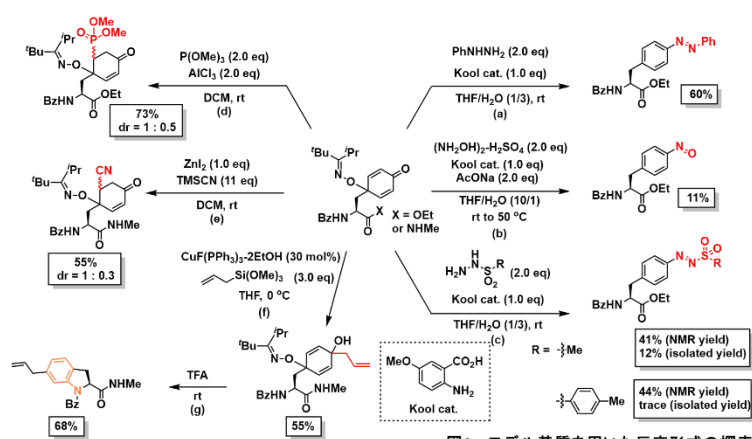


図1. モデル基質を用いた反応形式の探索

オキシム付加体を処理することで、中性 pH 水中条件下にてアゾベンゼン側鎖への変換を実現している。藤後は先ず他の反応形式の一つとして、フェニルヒドラジンの代わりにヒドロキシアミンを同様の条件で作用させたところ、50 °Cに昇温するとニトロソ化合物が 11%で得られることを見出した(図 1b)。メシルヒドラジド及びトシルヒドラジドを作用させたところ、NMR 収率 40%程度での反応の進行が確認できたが、生成物が光に対して不安定であり、単離すると収率は大幅に低下した(図 1c)。

P(OMe)<sub>3</sub>や TMSCN をルイス酸と共存させたところ、1,4 付加がそれぞれ中程度の収率で進行することが分かった(図 1d, e)。また官能基許容性の高いフッ化銅触媒を用いるアリル化を検討したところ、55%収率でカルボニルへの 1,2-付加反応が進行することが分かった。この生成物に関しては TFA で処理することにより、主鎖アミド窒素が S<sub>N</sub>2' 置換した後、オキシムの β 脱離を経て再芳香族化された生成物が得られた(図 1f, g)。

シクロヘキサジエノン構造へのペプチド主鎖窒素の付加を行うことが出来れば、プロリン模倣構造へ変換され、ペプチドの高次構造に配座規制をもたらさうる新たな考え方の誘導体化法になることが期待される。これを意図した様々な塩基条件を検討したところ、エタノール中  $\text{Ca}(\text{OMe})_2$  を用いると 5 員環が迅速に形成される一方 (図 2a)、 $\text{KO}^t\text{Bu}$  を用いると 6 員環形成が

優先されることを見いだした (図 2b)。TLC で反応を追跡すると 5 員環形成が初めに進行したのち、6 員環環化体が時間とともに得られることが分かった。この現象に関して、5 員環形成の方が速度論的に起こりやすいが、レトロマイケル反応も同時に進行し、熱力学的に安定な 6 員環が最終的に得られると考えられる。次に、藤後は得られた 5/6 縮環構造体の脱オキシム化反応についても検討した。TEMPO 及び TFA を作用させるとオキシムの脱離と環の酸化を経てカテコール様構造物が 34% で得られることを見出した (図 2c)。また、TFA のみで処理すると 89% 収率で脱オキシム化が進行した (図 2d)。その一方、6/6 縮環構造体に関しては同様の反応は遅く、40 °C で反応させたところ 27% 収率で脱オキシム生成物が得られることが分かった (図 2e)。

最後に藤後は、ここまで見出した条件を基に生理活性ペプチド (アンジオテンシン II) への適用を検討した (図 3)。初めに、有機溶媒中でのオキシム付加について再検討を行ったところ、オキシム及び CAN を 10 当量ずつ作用させると、望みの生成物が 96% 収率で得られることを見出した (図 3(2))。続いて、ここに  $\text{Ca}(\text{OMe})_2$  を 20 当量

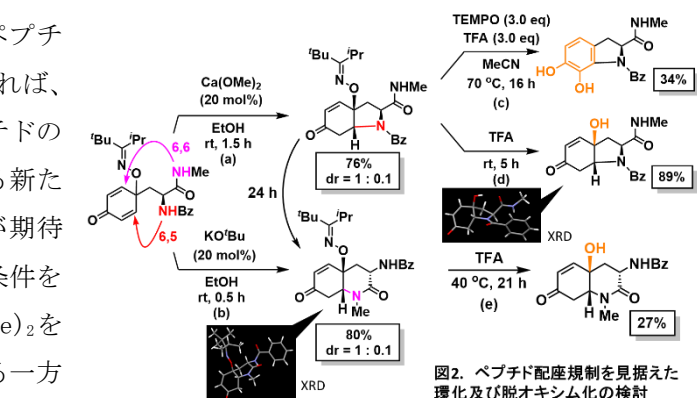


図2. ペプチド配座規制を見据えた環化及び脱オキシム化の検討

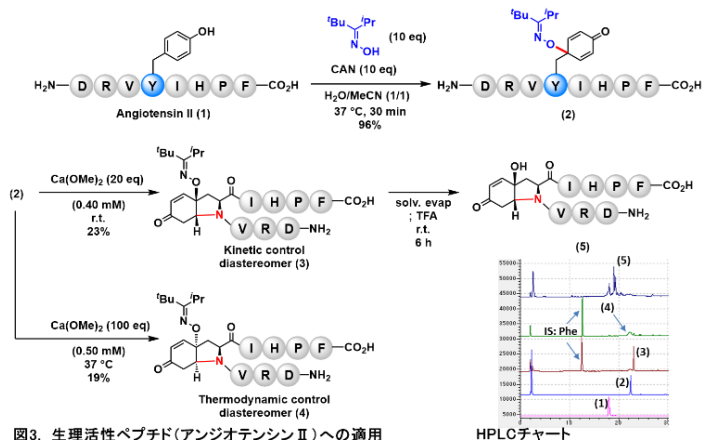


図3. 生理活性ペプチド(アンジオテンシン II)への適用

HPLCチャート

加え、室温で反応させたところ、NMR、MS のデータに一致する速度論的に安定な上向きシス 5/6 縮環環化体が 23% 収率で得られることを見出した (図 3(3))。一方で、 $\text{Ca}(\text{OMe})_2$  を 100 当量加え、37 °C で反応させたところ、NMR、MS のデータに一致する熱力学的に安定な下向きシス 5/6 縮環環化体が 19% 収率で得られることを見出した (図 3(4))。最後に、環化体 (3) の溶媒を除去し、TFA を加えて攪拌すると、副生成物の生成も確認されるものの、脱オキシム化体に相当する生成物ピークへと変換された (図 3(5))。以上の結果より、条件選択的な環化反応と引き続き脱オキシム化反応についてはペプチドレベルでの適用可能性を見いだすことが出来た。

以上の業績は、ペプチドの構造多様化に大きく貢献するものであり、博士 (薬科学) の学位論文として合格と認められる。