

学位論文題名

トリフルオロメチルジアジリン化芳香族の網羅的な
合成研究

学位論文内容の要旨

光アフィニティーラベル法は、生理活性物質（リガンド）に光反応基を導入したラベル試薬を用い、試薬と生体高分子間の親和性を利用し複合体を形成させ、そこに光照射することで生体高分子をラベル化し、その検出や解析が可能となるケミカルバイオロジー領域における重要な研究分野に位置づけられている。本研究は、その光アフィニティーラベル法に利用されるトリフルオロメチルジアジリニル基含有ラベル試薬の網羅的な合成研究について行なった。

1) Friedel-Crafts 反応による光反応性側鎖伸長芳香族アミノ酸の立体選択的合成法の開発

側鎖伸長芳香族アミノ酸は通常の芳香族アミノ酸とは異なる生理活性作用を示すことが知られており、その構造活性相関を研究するために、光反応性側鎖伸長芳香族アミノ酸合成について研究を行なった。従来の側鎖伸長芳香族アミノ酸合成に可能な Friedel-Crafts 反応は、原料のアミノ酸誘導体の難溶性から、加熱・長時間・過剰の芳香族が必要であり、トリフルオロメチルフェニルジアジリン等の高価・熱分解性のある芳香族には適用不可能であった。そこで糖タンパク脱グリコシル化等の生体機能解析に利用されるトリフルオロメタンスルホン酸 (TfOH) の酸性度に着目し、これを触媒兼溶媒として利用することで効率のよい Friedel-Crafts 反応の検討を行なった。その結果、芳香族とアミノ酸誘導体を当量条件・室温・短時間で反応、また原料の光学活性アミノ酸誘導体の不斉保持による側鎖伸長芳香族アミノ酸合成を確立した。TfOH を利用した Friedel-Crafts 反応による新規側鎖伸長芳香族アミノ酸合成法を開拓したことで、高価で熱分解性のあるトリフルオロメチルフェニルジアジリン等にも適用可能となった。またフェノール類を基質とした場合、TfOH 濃度を調整することで Friedel-Crafts 反応と O-アシル化反応の制御が可能になり、また O-アシル体の有効な Fries 転位触媒になることも判明した。さらに TfOH を難溶性のビオチンにも適用検討を行なった。これまでビオチンの側鎖カルボキシル基誘導体化法はアミド結合や Sonogashira カップリング等のごく数種類しか報告がされていなかったが、TfOH を利用することでビオチンの側鎖にも Friedel-Crafts 反応が適用可能となり、新たな誘導体化法を確立した。

2) 新規ジアジリニルインドール並びにその誘導体群合成

インドールはピロール環を含む非常に電子リッチな芳香族であり、その化合物群は薬物の宝庫であり何百種以上の阻害剤や、植物ホルモン等の医・農薬品が現存している。これらの光反応性誘導体は対象タンパク質等との相互作用を研究する目的に極めて有用であるが、インドール環上にトリフルオロメチルジアジリン骨格を構築した例がないため、ジアジリニルインドールやその生理活性誘導体の合成検討を行なった。初めにトリフルオロメチルジアジリン誘導体を原料とし、ジアジリニルインドール合成を種々検討したが、どれも合成途中でジアジリニル基の分解が確認された。そこでインドール環上に直接ジアジリニル基を構築する検討を行い、初めてジアジリニルインドールの合成に成功した。またジアジリニルインドールを母核することで、ジアジリニルインドール-3-カルビノール、ジアジリニルグラミン、ジアジリニルトリプトファン、ジアジリニルインドール酢酸の誘導体化にも成功した。特にジアジリニルインドール酢酸類はその生理活性についてエンバク萌芽伸長実験によって確認

しており、通常のインドール酢酸と遜色ない伸長活性を示し、植物ホルモン代謝機構解明の有用な光ラベル試薬になることが期待できる。

3) 光アフィニティーラベル法によってラベル化された生体分子検出手法の開発

これまで光アフィニティーラベル後の生体分子検出手法を検討しておらず、その手法として銅触媒を利用したクリック・ケミストリーが有用であると考えられる。今回の研究において *N*末端フリーのアミノ酸含有基質をターゲットとした場合、アミノ基による一価銅触媒の酸化および高温反応が必要であることが確認され、その適用範囲が限られることが判明した。さらに質量分析を利用した、ラベル分子解析のために重水素化についても検討を行なった。第1章の Friedel-Crafts 反応物のベンジルカルボニルや α -位への重水素化を見据え、トリフルオロメチルジアジリニアセトフェノン誘導体をモデル化合物とし、NaOH/CH₃OD あるいは TFA-D を利用することで、簡便且つ効率よい重水素交換を達成した。また TfOH の代わりに、TfOD を利用した Friedel-Crafts 反応では側鎖伸長芳香族アミノ酸誘導体の芳香環上への効率的な重水素交換を確認した。この TfOD を利用した重水素交換反応を更に発展させるべく、Phe, Tyr, Trp への重水素交換を検討し、重水素交換率や優先的交換位置を確認した。さらにこの手法は生理活性ペプチド leucine enkephalin においても同様の検討を行い、Tyr, Phe への重水素交換率を確認した。また、さらなる確信を得るため、キモトリプシンを利用し leucine enkephalin を酵素消化することで、Tyr, および Gly-Gly-Phe 断片を得、重水素交換率を確認し、単一アミノ酸時と同様の傾向を示すことを確認した。

4) 光学活性フェニルアラニン骨格への新規ジアジリニル基直接構築の検討

ジアジリニルフェニルアラニンの構築は酵素分割法やキラル触媒を利用した方法が報告されているが、多段階反応や収率低下の問題があった。またフェニルアラニンへの直接ジアジリニル基構築は未だ報告されておらず、フェニルアラニンへのトリフルオロアセチル基構築さえ例がない。これはフェニルアラニンの芳香環上への置換基導入が困難であることに起因していた。本研究では、フェニルアラニンの芳香環上への置換基導入反応、ならびにその後のジアジリニル基構築反応に適用できるアミノ基、カルボキシル基の保護基を十分に検討することで光学活性フェニルアラニンより *N*-Boc-4-I-Phe-O^tBu を準備し、不斉を保持したまま直接ジアジリニル基構築を達成した。

5) 新規光反応性フェニルエチルアミンの合成と光反応性アデノシン誘導体の合成への応用

フェニルエチルアミン骨格を持つ生理活性物質は神経伝達物質や神経修飾物質として重要な役割を果たしているが、その光反応性誘導体はほとんど報告がされていない。そこで光反応性フェニルエチルアミンの合成を網羅的に行ない、トリフルオロメチルジアジリン、アジド、ベンゾフェノン含有フェニルエチルアミン 3 種の簡易的合成法を確立した。さらにアデノシンレセプター A_{2A} のアゴニストとなる CGS-21680 への光反応性基構築を検討した結果、アジドおよびベンゾフェノン誘導体合成に成功した。一方ジアジリニル誘導体に関しては、反応中にジアジリニル基の分解を確認した。現在、アジド体同様、まず *p*-ブロモフェニルエチルアミンとのカップリング反応後、トリフルオロアセチル基の導入、ならびにジアジリニル基構築の検討等を行っており、ジアジリニルアデノシン誘導体合成法の確立を目指している。

学位論文審査の要旨

主 査	准教授	橋 本	誠
副 査	教 授	橋 床	泰 之
副 査	教 授	生 方	信
副 査	講 師	崎 浜	靖 子

学 位 論 文 題 名

トリフルオロメチルジアジリン化芳香族の網羅的な 合成研究

本論文は123頁、スキーム65、表1、図12、7章からなり、参考論文12編が付されている。

生理活性という単語で表される生命体で引き起こされる様々な反応は、そのほとんどが生理活性物質と生体高分子の結合を介して引き起こされている。これら種々の生理活性の本質を理解するためには、この生理活性物質-生体高分子複合体の状態を解析する事が必要となる。この解析に光アフィニティーラベル法を用いるため、有用な光反応性基であるがその合成が難しいトリフルオロメチルジアジリン誘導体の合成を行い、かつ詳細な反応条件の探索によりアミノ酸・ペプチド新規重水素化法の検討へと発展させる研究を行った物である。

1) 側鎖伸長芳香族 α -アミノ酸の効率的立体選択的合成

α -アミノ酸側鎖部分の構造活性相関を研究する上で立体選択的かつ効率的な側鎖伸長ブロープ合成が必要とされ、有機金属を用いた合成方法等が報告されているが、特別な取扱・器具等が必要であった。申請者は増側鎖伸長アミノ酸が入手容易な光学活性酸性アミノ酸類と芳香族化合物のFriedel-Crafts反応により立体選択的に合成可能と考えたが、通常のFriedel-Crafts反応条件ではアミノ酸骨格の溶解度に問題があり過剰な芳香族を用いる必要であった。この問題を解決するためにトリフルオロメタンスルホン酸(TfOH)のアミノ酸溶解能ならびにFriedel-Crafts反応触媒能に着目し、アミノ酸の不斉保持による等量反応を開発した。この条件をトリフルオロメチルジアジリン誘導体に適用し効率的な立体選択的合成を達成した。この概念を難容性化合物であるピオチンにも適用し、初めてFriedel-Crafts反応が可能である事を明らかとした。

2) 新規ジアジリニルインドール誘導体群合成

インドールは様々な生理活性物質の母核となる化合物であるが、その光アフィニティーラベルへの応用はほとんど行われてこなかった。様々な検討の結果ジアジリニルインドールを合成し、それを種々の生理活性誘導体へ変換する手法が最も効率的である事を明らかとし、新規光反応性インドール-3-カルビノール、グラミン、トリプトファン、インドール酢酸の合成に成功した。ここで合成した光反応性インドール酢酸は、エンバク萌芽伸長実験によって通常のインドール酢酸と同程度の活性を保持している事も確認した。

3) 光ラベル生体分子検出法の開発

ここまで合成した化合物群が光アフィニティーラベルした後、検出に利用できるタグ等を持たない事から、検出法としてクリック・ケミストリーの適用について検討した。その結果N末端フリーのアミノ酸骨格を持つ基質の場合、一価銅触媒の酸化が認められかつ高温反応が必要であることを明らかとした。そこで安定同位体標識による質量分析計を利用した検出

を検討した。1)における合成中間体であるベンジルカルボニル骨格の α -位の酸性度の高さを利用し、NaOH-CH₃OD条件による重水素化を確立した。また1)におけるTfOHを用いた反応において重水素化試薬(TfOD)を利用することで、芳香族アミノ酸の芳香環上への効率的な重水素交換が可能であることを見いだした。この重水素交換反応を更に発展させるため、フェニルアラニン、チロシン、トリプトファンに対する重水素化反応を検討し、その位置選択性等を確認した。これを生理活性ペプチド類に適用した所、その反応性はアミノ酸での重水素交換反応の選択制に準ずる事を明らかとした。

4) フェニルアラニン上への直接ジアジリニル基構築の検討

ここまでトリフルオロメチルジアジリン誘導体化への種々の反応を検討する中で、これまで報告されていなかったフェニルアラニン骨格の芳香環に対するトリフルオロメチルジアジリン基の構築が可能であると考え、反応を検討した。フェニルアラニンへのトリフルオロアセチル基の導入すら前例がない中で、4-ヨードフェニルアラニンに塩基性耐性保護基をかけMeLi-tBuLiの組み合わせによりトリフルオロアセチル基導入を達成した。この後ジアジリン合成反応を行う事により出発フェニルアラニンの立体を保持したトリフルオロメチルジアジリニル基構築を達成した。

5) 光反応性フェニルエチルアミンの合成とそのアデノシン誘導体への導入

フェニルアラニンが脱炭酸したフェニルエチルアミン骨格は生理活性物質中の部分構造としてよく知られているが、その光反応性誘導体に関してはほとんど報告がなされていなかった。そこでトリフルオロメチルジアジリンのみならず、アジド、ベンゾフェノン誘導体についてもその合成について検討した。アジド、トリフルオロメチルジアジリン誘導体は共通の出発原料から合成が可能であった。ベンゾフェノンに関しては1)におけるTfOHを用いたFriedel-Crafts反応を用いる事により効率的な合成を達成した。これらをアデノシンレセプターA_{2A}リガンドのアデノシン誘導体(CGS-21680)へと変換することに成功した。

以上本研究において、これまでその合成が困難であった光アフィニティーラベル用リガンド類の合成に数多く成功し種々の知見を与えた。よって、審査員一同は、村井勇太氏が博士(農学)の学位を受けるのに十分な資格を有するものと認めた。