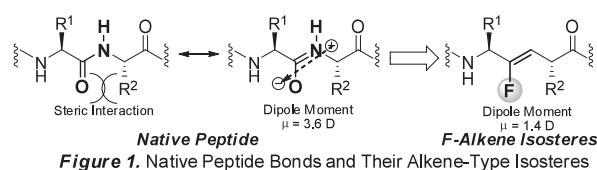


氏名	なるみ 海哲 夫
学位(専攻分野)	博士(薬学)
学位記番号	薬博第630号
学位授与の日付	平成20年3月24日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科・専攻	薬学研究科創薬科学専攻
学位論文題目	Synthetic Studies on Fluoroalkene Dipeptide Isosteres and Their Application to Biologically Active Peptides (フルオロアルケン型ジペプチドイソスターの合成研究と生物活性ペプチドへの応用)
論文調査委員	(主査) 教授 藤井信孝 教授 竹本佳司 教授 富岡清

論文内容の要旨

生体内で容易に加水分解を受けるペプチドの非ペプチド化研究は、生物学的安定性及び生物活性の向上を目的として古くから盛んに行われ、非天然型骨格を有する誘導体が天然物より強い薬理活性を有することがしばしば見出されている。その中でもアミド結合をフルオロアルケンで置換したフルオロアルケン型ジペプチドイソスター（以下、FADI）は、高い構造的及び静電的相同性を有するバイオイソスターとして近年注目を集めている。しかしながら、アミノ酸側鎖に相当する二つの不斉点及び不斉点に挟まれたフルオロアルケン骨格の幾何異性構築の困難さから有効な立体選択的合成法が開発されておらず、バイオイソスターとしての有効性は未だ確立されていない。そこで著者はこのFADIの立体選択的合成法及び触媒的合成法を開発し、生理活性ペプチドに応用することでそのバイオイソスターとしての能力を精査することとした。

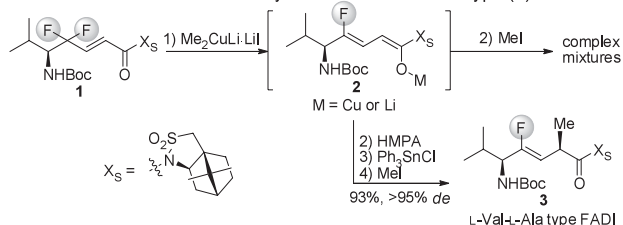


1. トランスメタル化を経由する One-Pot 還元／不斉アルキル化反応による多価官能基を有する FADI の高立体選択的合成法の開発

所属研究室ではこれまでに還元剤によるフルオロアルケン骨格の合成法を見出している。そこで分子内にキラル補助基を導入した **1** を基質として不斉環境を有するジエノレート中間体を生成後、種々の求電子剤により補足することで、二つの不斉点とそれらに挟まれたフルオロアルケン骨格を One-Pot 反応により効率よく合成できるものと考え、以下に検討を行った。

イソブチルアルデヒドより誘導した基質 **1** に対し、有機銅試薬を作用させ一電子還元後、ヨードメタンを作用させたが目的とするアルキル化体は得られなかった。そこで一電子還元後トランスメタル化によりスズジエノレートを形成し、その後ヨードメタンを作用させたところ、FADI **3** を高収率 (93%)、高立体選択的 (>95% *de*) に得ることに成功した (Scheme 1)。本合成法ではアミノ基構築の立体化学と還元／アルキル化における不斉補助基の立体化学の組み合わせにより、(L,L) 型だけでなく (L,D), (D,D), (D,L) 型イソスターが合成可能であることも併せて明らかにした。さらに様々な求電子剤を用いることで多くの類縁体合成が可能であることから、多様性に富んだペプチドミメティックスライブラリーを構築する上で実用性の高い手法であると考えている。

Scheme 1. Diastereoselective Synthesis of L-Val-L-Ala Type (Z)-FADI

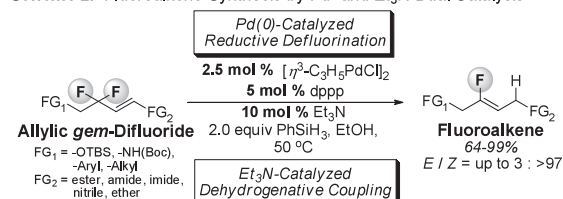


2. 炭素-フッ素結合切断を伴うフルオロアルケン骨格の触媒的合成法の開発

フルオロアルケン骨格はアミド結合ミメティックだけでなく、液晶材料や酵素阻害剤としても有用な骨格であることから、効率的合成法の開発が強く望まれている。フルオロアルケン骨格の構築法としては、著者が開発した前述の合成法 (Scheme 1) の他に、Wittig反応やアルドール縮合によるものが知られている。しかしながら、これらは量論反応を鍵反応とするものであり、反応に伴い相当量の副生成物を産出するため環境負荷の面で問題点を有する。そこで著者はこの問題を解決しうる独創的な反応の開発を目指し、パラジウム触媒による炭素-フッ素結合切断反応により本骨格を構築することを計画した。

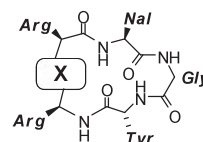
1と同様の経路により合成したアリルジフルオリドに対し、パラジウム触媒存在下求核置換反応を試みたが目的とする反応は進行しなかった。続いて添加剤について検討したところフェニルシラン共存下反応を行うことでフルオロアルケン骨格を有する還元体が低収率ながら得られることを見出した。反応条件を精査した結果、エタノール溶媒、触媒量のトリエチルアミン、及びパラジウム存在下、フェニルシランを作用させることで還元体が良好な収率で得られることを見出した (Scheme 2)。本反応は様々な官能基を有する基質に対し適用可能であり、かつ非常に高い触媒効率で反応が進行することを明らかにした (TON >600)。

Scheme 2. Fluoroalkene Synthesis by Pd- and Et₃N-Dual Catalysis



3. Orn-Orn 型 FADI の合成、及び Fmoc 固相合成法によるペプチドミメティックへの応用

FADIはペプチド結合のカルボニル酸素に相当するフッ素原子を有しているため、他のアミド結合等価体と比較して静電的及び構造的にも有利であることが期待される。しかしながら、これまで FADI の機能評価研究は他の等価体に比べ著しく少ない。そこで著者は所属研究室で見出した CXCR4 アンタゴニストである環状ペプチド FC131 の Arg-Arg 間のアミド結合を FADI で置換したシュードペプチドを合成し、そのアミド結合等価体としての能力を検証することを計画した (Figure 2)。

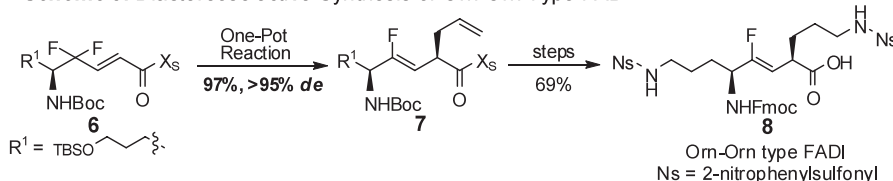


FC131 (4): X = -CO-NH-
FCN001 (5): X = -ψ[(Z)-CF=CH]-

Figure 2. FC131 and Its Fluoroalkene Pseudopeptide (FCN001)

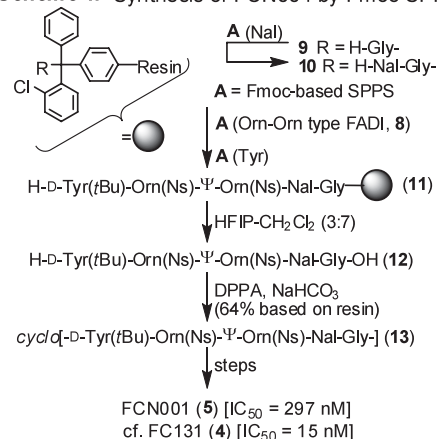
1の合成と同様に鍵中間体 6 を合成し、先に述べた One-Pot 還元/不斉アルキル化反応により Arg の側鎖に相当する C3 ユニットのを高立体選択的に導入し化合物 7 へと誘導した (Scheme 3)。さらに位置選択的ヒドロホウ素化及び窒素官能基の導入、Fmoc 基への変換により Orn-Orn 型イソスター 8 を合成した。

Scheme 3. Diastereoselective Synthesis of Orn-Orn Type FADI



続いて、イソスター 8 を Fmoc 固相合成法によりペプチド鎖へと導入することを検討した (Scheme 4)。縮合条件を精査した結果、Fmoc 固相合成法において α 位不斉点のエピメリ化などの副反応を起こさない条件を見出し、対応するペプチドレジンを作成した。さらに直鎖ペプチドをレジンから切り出した後、ジフェニルホスホリルアジドにより環化、さらにグアニド化を含む数工程を経て目的とする Arg-Arg 間のペプチド結合をフルオロアルケンで置換した環状シュードペプチド 5 (FCN001) を得ることに成功した。また FC131 を対象化合物として SDF-1 の結合阻害活性を評価したところ、フルオロアルケン骨格を有する FCN001 は顕著な結合阻害活性を維持していることを確認した。

Scheme 4. Synthesis of FCN001 by Fmoc SPPS



以上の結果は、フルオロアルケン型アミド結合等価体のケミカルバイオロジー研究および創薬研究への応用のための有用な基礎的知見を与えるものと考えられる。

論文審査の結果の要旨

生体内で容易に加水分解を受けるペプチドの非ペプチド化研究は、生物学的安定性、及び生物活性の向上を目的として古くから盛んに行われ、非天然型骨格を有する誘導体が天然のペプチドより強い薬理活性を有することが見出されている。その中でもフルオロアルケン型ジペプチドイソスターは、ペプチド結合をフルオロアルケンで置換したペプチド結合等価体であり、天然のジペプチドに対し高い構造的及び静電的相同性を有することが期待され、ペプチドリード創薬において有用なバイオイソスターとして注目を集めている。また、ペプチド結合をアルケンにより *cis* 型/*trans* 型の一方に固定化することは、分光学的構造解析では困難なペプチド結合の機能発現型立体配置の同定や、生理活性ペプチドの機能部位の詳細な解析を可能にするツールとしても有用なことから、フルオロアルケン型ジペプチドイソスターの高効率かつ高立体選択的合成法の開発が切望されている。

著者はまず、トランスメタル化を経由する一電子還元/不斉アルキル化反応により、これまで立体選択的合成が困難であった (*Z*)-フルオロアルケン型イソスターの高立体選択的合成法の開発に成功した。本法において鍵工程となる銅またはリチウムジエノレート中間体からスズジエノレート中間体へのトランスメタル化が効率よく進行していることから、銅からスズへトランスメタル化する手法がエノレート系だけでなくジエノレート系においても有効であることを明らかにした。

さらに著者は触媒的炭素-フッ素結合切断を伴うフルオロアルケン骨格の新規合成法を開発し、本法がフルオロアルケン含有ペプチドミメティクスの合成法として応用可能であることを示した。また、反応機構について詳細な検討を行うことにより、本反応がトリエチルアミン触媒によるエタノールとフェニルシランの水素の発生を伴うカップリング反応、及びパラジウム触媒による還元的脱フッ素化反応からなる協同触媒系であることを明らかにした。

最後に著者は、一電子還元/不斉アルキル化反応を鍵反応として官能基を有するフルオロアルケン型イソスターの実践的合成に応用し、得られたオルニチン-オルニチン型フルオロアルケン型イソスターを固相合成法により環状ペプチド FC131 に導入した。イソスター部分の官能基変換を行うことで、FC131 のアルギニン-アルギニン部分をイソスターに置換した環状ペプチドを合成することに成功し、著者が開発した合成法の実用性の高さを実証した。さらに、得られた環状シユードペプチドについて CXCR4 アンタゴニスト活性を評価し、FC131 に比べ約 1/20 程度のアンタゴニスト活性を有していることを明らかにした。

以上のように、著者はバイオイソスターとして注目を集める (*Z*)-フルオロアルケン型イソスターの高立体選択的合成法の開発と、パラジウム/トリエチルアミン協同触媒によるフルオロアルケン含有ペプチドミメティクスの触媒的合成法の開発に成功した。さらに得られたフルオロアルケン型イソスターを生理活性ペプチドへ導入し、そのペプチド結合等価体としての有用性を示した。

本論文に記述された成果は、医薬品化学のみならず、有機合成化学、有機金属化学、生物化学等の幅広い分野に対して有用な知見を提供するものと判断される。

よって、本論文は博士(薬学)の論文として価値あるものと認める。

更に、平成20年2月28日、論文内容とそれに関連した口頭試問を行った結果、合格と認めた。