

〔別紙 2〕

審査の結果の要旨

氏名 山下智也

山下智也は、「Staudinger ライゲーションを用いた α,β -不飽和ペプチドの合成」のタイトルで、研究を展開した。以下に、その詳細を述べる。

ペプチド系天然物の中には、 α,β -不飽和アミノ酸残基を有する高生物活性分子が数多く存在する (Figure 1)。 α,β -不飽和アミノ酸は自由度の乏しい不飽和結合を持つため分子全体の三次元構造に大きな影響を与える。そのため、分子の生物活性に大きく寄与する部分構造であるが、これら天然物の構造活性相関研究や作用機序解明を実現するには、効率的な α,β -不飽和ペプチドの調製法が必要である。これまで多くの研究がなされてきたが、*E/Z* 選択的に三置換および四置換 α,β -不飽和アミノ酸部位を構築することは未だに困難な課題である。このような背景から、山下智也は、新たな α,β -不飽和ペプチド合成法の開発を目指して研究に着手した。

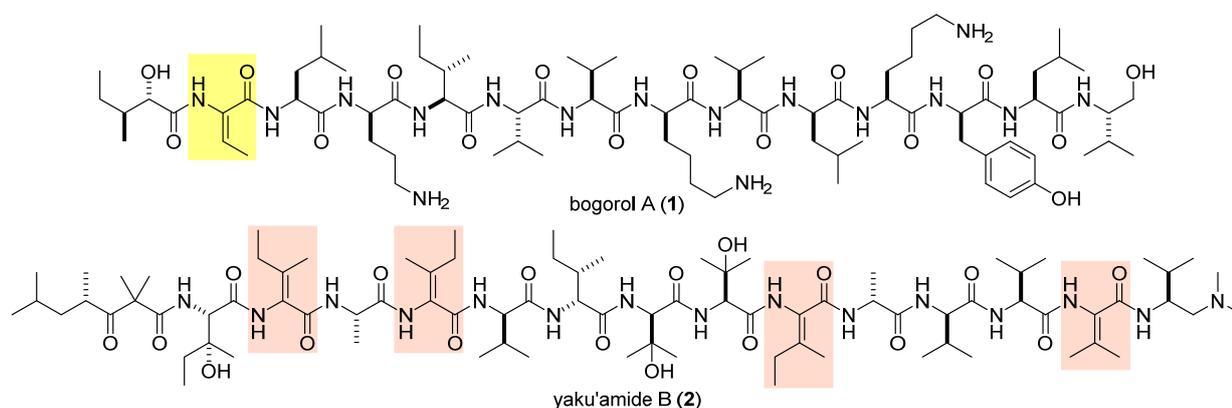
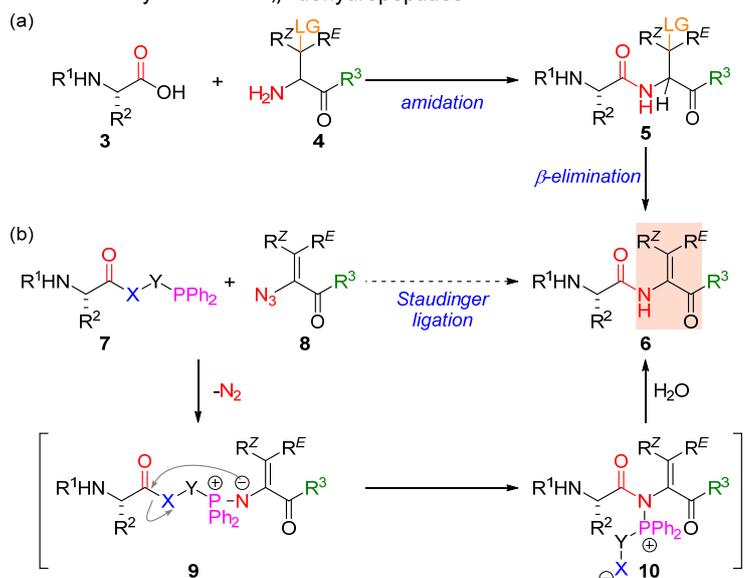


Figure 1. Examples of natural α,β -dehydropeptides

α,β -不飽和ペプチド合成法としては、カルボン酸 **3** に対し、脱離基を有し C 末端がエステルであるアミン **4** ($R^3 = OR$) を縮合した後、 β 脱離を経る方法が一般的である (**5** \rightarrow **6**, Scheme 1a)。しかし、適切な脱離基や保護基の導入、さらにその脱離反応および脱保護に多工程を要する。また、**5** が C 末端にアミドを有する ($R^3 = NHR$) 場合には、本法により *E/Z* 選択性を自在に制御することは困難である。そこで山下は、 α,β -不飽和アミノ酸部位を直接的に構築することができれば、既存の手法に比べて効率性が高いと考えた。さらに山下は、温和かつ中性条件下にて反応が進行するため官能基許容性の高い Staudinger ライゲーションに着目し、三置換または四置換 α,β -不飽和アミノ酸部位を直接構築する計画を立てた (Scheme 1b)。すなわち、ホスフィン **7** とアルケニルアジド **8** の反応によって生じた **9** は、分子内アシル基転移によって **10** を生成する。**10** が加水分解されることで α,β -不飽和ペプチド **6** が得られると予想した。

Scheme 1. Synthesis of α,β -dehydropeptides

すなわち、ホスフィン **7** とアルケニルアジド **8** の反応によって生じた **9** は、分子内アシル基転移によって **10** を生成する。**10** が加水分解されることで α,β -不飽和ペプチド **6** が得られると予想した。

ホスフィン **11a** と三置換アルケニルアジド(**Z**)-**12a** を基質として反応溶媒を検討した結果、THF/H₂O を用いた場合に良好な収率で望みのデヒドロアミノブチリン(Δ Abu) (**Z**)-**14a** が得られることが分かった(Table 1, entry 1)。(E)- Δ Abu は (**Z**)- Δ Abu に比べて大きな1,3-アリル歪みを有するため熱力学的に不安定であり、その選択的構築は困難であることが知られている。しかし、(E)-**12a** を同様の反応条件で処理したところ、良好な収率かつ高い選択性にて (E)-**14a** が得られた(entry 2)。

三置換アルケニルアジドとは異なり、四置換アルケニルアジド(**E**)-**13a** はホスフィン **11a** との反応において痕跡量の **15a** を生成するのみであった(entry 3)。そこで山下は、フェノール上の置換基を種々検討した結果、パラ位にメトキシ基を有する **11b** を反応させた場合に低収率ながら **15a** (*E*:*Z* = 6:1) が得られた(entry 4)。さらに、リン原子上の置換基を *p*-クロロフェニル基とすることで、収率および選択性が向上し、**15a** を 50%の収率かつ良好な選択性(*E*:*Z* = 12:1)で得ることができた(entry 5)。一方、興味深いことに、アルケニルアジドの C 末端にエステルを有する(**E**)-**13b** を用いた場合は、*E*/*Z* 異性化を起こすことなく高収率にて(**E**)-**15b** が得られることが分かった(entry 6)。

以上のように山下は、アルケニルアジドとホスフィノフェノールを用いた Staudinger ライゲーションによって、1 工程で *E*/*Z* 選択的に α,β -不飽和ペプチドを得ることに成功した。そこで確立した方法の、ノビラミド **B** (**16**)およびボゴロール **A** (**1**)の全合成への適用を計画した。

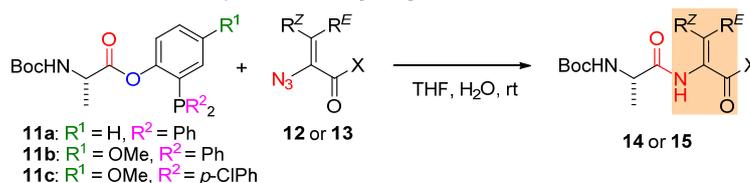
ノビラミド **B** (**16**)は、TRPV1 の阻害活性を有するペプチド系天然物であり、その活性発現における(**Z**)- Δ Abu 部位の関与が示唆されている。そこで山下は、Staudinger ライゲーションを用いることで(**Z**)- Δ Abu 部位が構築可能と考え、**16** の合成研究に着手した。

16 はペンタペプチド **19** とジペプチド(**Z**)-**21** の縮合により合成する計画を立てた。まず、固相合成により **17** から 11 工程で **19** を合成した(Scheme 2a)。一方、ジペプチド(**Z**)-**21** は、ホスフィン **11a** とアルケニルアジド(**Z**)-**20** を用いた Staudinger ライゲーションにより良好な収率にて得ることができた(Scheme 2b)。(Z)-**21** の Boc 基を TFA により除去し、生じたアミン(**Z**)-**22** と **19** を縮合することでエステル **23** を得た。最後に、アリル基を除去し、**16** の全合成を達成した。

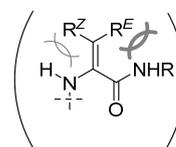
ボゴロール **A** [(*E*)-**1**, Scheme 3b]は、メチシリン耐性黄色ブドウ球菌(MRSA)やバンコマイシン耐性腸球菌(VRE)に対する抗菌活性を有するペプチド系天然物であり[MIC (MRSA) = 2.5 μ g/mL, MIC (VRE) = 9.0 μ g/mL]、新規抗生物質のリード化合物として期待される。しかし、(*E*)-**1** に存在する(*E*)- Δ Abu は天然物では稀有なユニットであり、前述の通り熱力学的に不安定であるため、その選択的構築が困難である。山下は、先の検討(Table 1)より、Staudinger ライゲーションによって(*E*)- Δ Abu が構築できるものと予想し、作用機序解明や構造活性相関研究を視野に入れた(*E*)-**1** の全合成研究を行った。一般に不飽和アミノ酸残基は分子の生物活性発現に大きく寄与する部分構造であるため、天然物の(*E*)-**1** に加えて逆の幾何異性を有する(**Z**)-**1** の合成も同時に行い、 Δ Abu 部位の幾何異性が抗菌活性発現に及ぼす影響を調べることにした。

まず山下は、反応性を確認するため、液相にてホスフィン **24** とアルケニルアジド(*E*)-**12a** を反応させたところ、期待通り高選択的に(*E*)-**25** が生成した(Scheme 3a)。次に、固相上での反応を検討するべく固相合成に着手した。バリノールを担持した市販の樹脂 **26** から伸長したアルケニルアジド(*E*)-および(**Z**)-**27** に対し、ホスフィン **24** を作用させることにより固相上にて Δ Abu 部位を構築した。続いて樹脂からの切り出しと脱保護を行ったのち、HPLC による精製を経て 25 工程 31%の収率にて(*E*)-**1** の全合成を、27%の収率にて(**Z**)-**1** の全合成をそれぞれ達成した(Scheme 3b)。合成した(*E*)-**1** および(**Z**)-**1** は、メチシリン感受性黄色ブドウ球菌(MSSA1)に対し、同等の活性(MIC = 4 μ g/mL)を示した。このことから山下は、ボゴロール **A** の抗菌活性発現には Δ Abu 部位の幾何異性は寄与しないことを明らかにした。

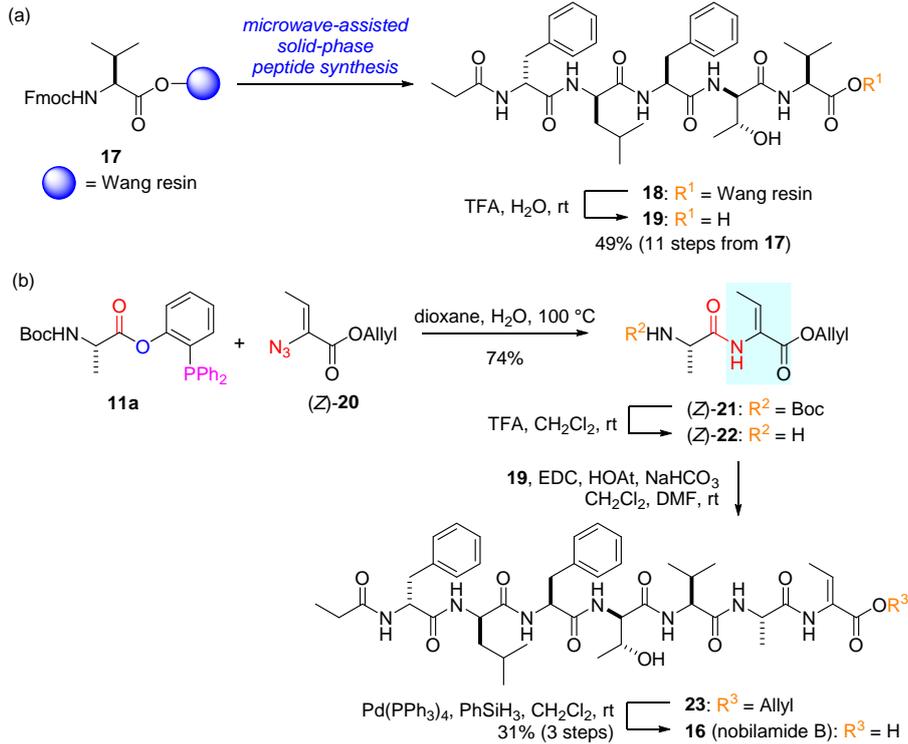
Table 1. Substrate scope of Staudinger ligation



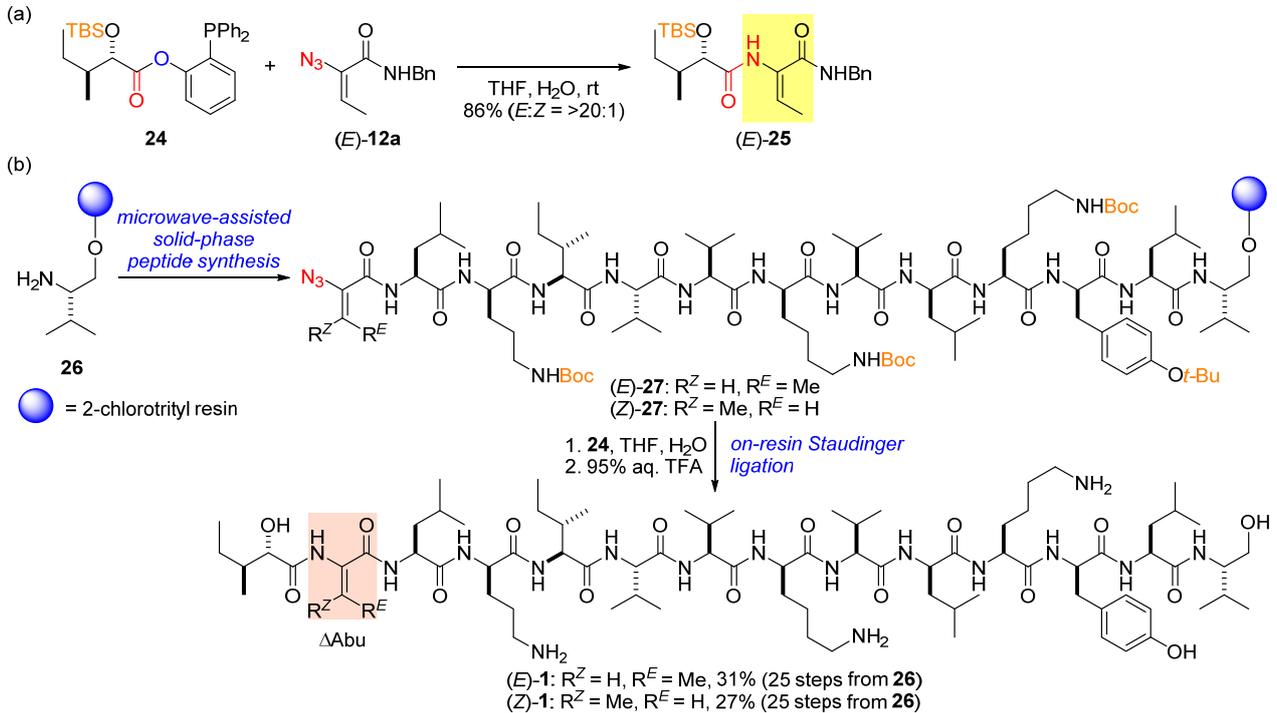
entry	11	12 or 13			yield (%)			
		R ^Z	R ^E	X	product (Z)	(E)		
1	11a	(Z)- 12a	Me	H	NHBn	14a	58	-
2	11a	(E)- 12a	H	Me	NHBn	14a	3	75
3	11a	(E)- 13a	Me	Et	NHBn	15a	trace	-
4	11b	(E)- 13a	Me	Et	NHBn	15a	3	18
5	11c	(E)- 13a	Me	Et	NHBn	15a	4	46
6	11b	(E)- 13b	Me	Et	OBn	15b	-	82



Scheme 2. Total Synthesis of nobilamide B (16)



Scheme 3. Total syntheses of bogorol A [(E)-1] and its isomer (Z)-1



以上のように山下智也は、アルケニルアジドとホスフィノフェノールを用いた **Staudinger** ライゲーションによって、 α,β -不飽和ペプチドが効率的かつ E/Z 選択的に合成可能であることを見出した。また、本手法を応用することでノビラミド B およびボゴロール A の全合成を達成した。本反応は C 末端にアミドを有する α,β -不飽和ペプチドが直接得られる点で、既存の手法に比べて効率的であり、固相合成にも適用可能である。本方法論を拡張することで様々な α,β -不飽和アミノ酸部位が選択的に構築できると期待され、天然物の生物活性発現に対する不飽和アミノ酸の寄与について詳細な解析が可能になる。これらの成果は、薬学研究に寄与するところ大であり、博士(薬科学)の学位を授与するに値するものと認めた。