

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	マイクロフロー法を基盤とするペプチドとビタミンD類縁体の合成研究
Title(English)	
著者(和文)	御舩悠人
Author(English)	Yuto Mifune
出典(和文)	学位:博士(工学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10134号, 授与年月日:2016年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:田中 浩士,布施 新一郎,三上 幸一,田中 健,伊藤 繁和
Citation(English)	Degree:Doctor (Engineering), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10134号, Conferred date:2016/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	要約
Type(English)	Outline

本論文は「マイクロフロー法を基盤とするペプチドとビタミン D 類縁体の合成研究」と題し、マイクロフロー法を活用することにより、従来のバッチ法では実現困難な合成戦略を基盤とした多官能性天然物の効率的合成法の開発について述べたものである。多数の官能基をもつ化合物は、有用な生物活性化合物や天然物に多くみられるが、その官能基に起因する副反応の抑制が合成上の課題になる。また、廃棄物の少ない効率的な合成法の開発は、環境に調和した持続可能な社会の実現を目指すための課題になっている。筆者は、多数の官能基をもつ生物活性化合物であるペプチドとビタミン D 類縁体に着目し、その合成上の課題の解決を目指した。すなわち、従来のペプチド合成ではラセミ化の抑制や原子効率の向上等が、ビタミン D 類縁体の合成では光反応における副反応の抑制や光増感剤使用に起因する廃棄物の削減などが課題になっている。これらの課題を解決するため、微小な空間を反応場として利用するマイクロフロー法を駆使した合成戦略を基盤として、高効率合成法の開発に取り組んだ。具体的には、カルボン酸の迅速かつ強力な活性化を基盤とするマイクロフローアミド結合形成法の開発とそれを用いた天然物フェグリマイシンの全合成、および連続的な光反応と熱反応を基盤とするビタミン D 類縁体合成法の確立を行った。

第 1 章「序論」では、多数の官能基をもつ生物活性化合物の合成における課題解決策としてマイクロフロー法に焦点を当て、その有用性について述べた。また、生物活性化合物の一つとしてペプチドをとりあげ、従来のアミド結合形成法とその問題点、天然物の特徴と過去の合成例について述べた。つづいて、ビタミン D 類縁体に焦点を当て、その重要性や従来の合成法における問題点、マイクロフロー法の有用性について述べた。

第 2 章「カルボン酸の迅速かつ強力な活性化を基盤とするマイクロフローアミド結合形成法の開発」では、マイクロフローリアクターを駆使してカルボン酸を迅速かつ強力に活性化し、短時間でアミド化する新規アミド結合形成法の開発に取り組んだ¹⁾。従来のペプチド合成法は、カルボン酸を穏やかに活性化することで α 位のラセミ化を抑制しつつ、長時間かけてアミド化するが、立体障害の大きいアミノ酸を利用した時の反応速度の向上、ヒスチジンやアリアルグリシンを用いた時のラセミ化の抑制、さらに原子効率の向上が課題になっている。これらの課題を解決するため、トリホスゲンでカルボン酸を 1 秒以内で強力に活性化して数秒以内でアミド化することで、高い求電子性をもつ中間体がラセミ化する前にペプチドを得る合成戦略を立案し、反応時間と反応温度を厳密に制御できるマイクロフロー法を駆使してその実現を目指した。

まず、モデル基質として Boc-Ser(O-Bn)-OH と H-Phe-OAllyl を用いて反応条件を検討した。その結果、カルボン酸を 0.5 秒で活性化して、アミンと 4.3 秒でアミド化する条件を見出し、ラセミ化を 1% に抑制しつつ目的のジペプチドを 92% の高収率で得た。この反応条件では、安価なトリホスゲンを使用し、穏やかな温度条件 (20 °C) 下で、副生成物は除去容易な二酸化炭素と DIEA の塩酸塩の

みで、過剰に使用したカルボン酸は分液操作で容易に回収できる。また、インライン IR 測定により活性種が対称酸無水物であることを強く示唆する結果を得た。続いて、基質適用範囲を調査し、嵩高いプロリンと *N*-メチルグリシンや、ラセミ化しやすいヒスチジンとシステイン、 α 位に遊離の水酸基をもつ乳酸などの幅広い基質に本合成法が適用可能であることを明らかにした。また、詳細な条件検討によって、非常にラセミ化しやすいフェニルグリシンも、ラセミ化を 3% 以下に抑制しつつ 97% の収率でアミド化できる条件を見出した。一方、バッチ法で同様の反応を行うと、収率の低下やラセミ化がみられることが分かった。なお、バッチ法では二酸化炭素とホスゲンとみられる気体の発生を確認しており、スケールアップの際には大きな危険が伴うが、マイクロフロー法では安全かつ再現性よく目的物を得られ、スケールアップも容易である。

最後に、天然物オーリライドの部分骨格であり、嵩高い *N*-メチルアミノ酸を含むテトラペプチドを合成することで開発した手法の有用性を示した。この際、立体障害により反応速度が著しく低下するアミド化反応においては、新たな反応条件を見出した。バッチ法による脱保護とマイクロフローアミド結合形成法による縮合を組み合わせることで、直線的合成戦略と収束的合成戦略の両方でテトラペプチドを合成することに成功した。また、マイクロフローリアクターの連続運転によって再現性良く容易にスケールアップできることを示した。

以上の結果より、新たに立案した合成戦略に基づき、マイクロフロー法を駆使して開発したアミド結合形成法が、従来のペプチド合成における課題の解決に有効であることを示した。また、本法は多様なアミノ酸残基を持つペプチドを効率的に合成できるため、ペプチドを基盤とする医薬品開発および医薬品の生産に対して有効であると考えている。

第 3 章「マイクロフロー法を基盤とするフェグリマイシンの全合成」では、開発したマイクロフローアミド結合形成法を用いて、9 つのアリールグリシンを含む 13 残基ペプチドであるフェグリマイシンの全合成に取り組んだ。フェグリマイシンの合成上の課題は、4-ヒドロキシフェニルグリシン (Hpg) と D-3,5-ジヒドロキシフェニルグリシン (D-Dpg) の縮合におけるラセミ化の抑制と、溶解性の低下が懸念される合成中間体の精製である。まず、モデル基質を用いて、アリールグリシンを縮合するための反応条件を検討し、エピマーの生成を抑制しつつ良好な収率で目的のジペプチドを得る条件を見出した。次に、過去の報告を参考にして入手困難な D-Dpg 保護体を合成した²⁾。この際、マイクロフロー法を駆使することで、のべ 5 日間で約 180 g の α -ジアゾケトンに対して光照射による Wolff 転位反応を行い、鍵中間体のイミドを約 80 g 得た。その後、各種官能基変換を行い、合計 16.7 g の D-Dpg 保護体を合成した。

次に、C 末端ヘキサペプチドと N 末端ヘプタペプチドを、マイクロフローアミド結合形成法による縮合とバッチ法による脱保護を繰り返して合成した。開発したマイクロフローアミド結合形成法では夾雑物が少なく、未反応の基質も分液操作で分離できたため、再結晶やカラムクロマトグラフィーにより容易に合成中間体を精製することができた。さらに、縮合で得られたペプチドは ¹H NMR 解析によってラセミ化が進行していないことを確認している。最後に、ブロックカップリングと保護基の除去を行い、フェグリマイシンの全合成を達成した。

以上の結果から、エピマーの生成を抑制できて、夾雑物が少なく、なおかつ容易に除去できる本手法が、溶解性の低下により精製が困難になることの多い 10 残基以上のオリゴペプチドの合成にお

いて、有用であることを示した。

第4章「連続的な光反応と熱反応を基盤とするビタミンD類縁体の合成研究」では、マイクロフロー法を活用した連続的な光反応と熱反応によるビタミンD類縁体合成法の確立を目的として、活性型ビタミンD₃およびその類縁体の合成に取り組んだ^{1b, 3)}。活性型ビタミンD類縁体の合成では、生成物の光や熱、酸素に対する安定性の低下と、A環1位の2級水酸基に由来する副反応が問題である。まず、活性型ビタミンD₃類縁体の原料となる活性型プロビタミンD₃類縁体3種類を合成した。過去の報告を参考に、1 α ,25-(OH)₂-プロビタミンD₃を4段階、1 α -OH-プロビタミンD₃を3段階、25-OH-プロビタミンD₃を7段階、各段階60%以上の良好な収率で合成した。

次に、マイクロフローリアクターを用いて、ビタミンD₂の合成における光の強度と反応時間を検討した。各条件をHPLC-UVと¹H NMRで解析し、最適条件において単離した結果、ビタミンD₂を収率23%で得た。また、単離収率は¹H NMR解析による定量結果とよい一致を示し、HPLC-UV解析は本研究においては適切な解析方法ではないことを明らかにした。最後に、合成した活性型プロビタミンD₃類縁体3種類を用いて、活性型ビタミンD₃類縁体の合成における反応条件の検討と目的物の単離を行った。その結果、1 α -OH-ビタミンD₃は単離収率23%、25-OH-ビタミンD₃は単離収率25%で得られた。活性型ビタミンD₃は低収率となったが、1 α ,25-(OH)₂-プロビタミンD₃保護体を用いて基質の濃度を高めることにより単離収率28%で活性型ビタミンD₃保護体を合成し、TMS基の除去を経て活性型ビタミンD₃を得ることに成功した。

本合成法は、安価な高圧水銀灯を用いて、光増感剤等の添加剤を用いず、高濃度で、中間体の単離が不要であるため、ビタミンD類縁体の効率的合成法が確立できたと考えている。また、本合成法では入手容易な活性型プロビタミンD類縁体から活性型ビタミンD類縁体をラボスケールで効率的に合成できるため、それらを基盤とする医薬品開発への展開が期待される。

第5章「結論」では、本論文を総括した。

References

- 1) a) Fuse, S.; Mifune, Y.; Takahashi, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2014**, *53*, 851. b) Fuse, S.; Mifune, Y.; Tanabe, N.; Takahashi, T. *Synlett* **2014**, *25*, 2087.
- 2) Mifune, Y.; Fuse, S.; Tanaka, H. *J. Flow Chem.* **2014**, *4*, 173.
- 3) Fuse, S.; Mifune, Y.; Tanabe, N.; Takahashi, T. *Org. Biomol. Chem.* **2012**, *10*, 5205.