

## 学 位 論 文 要 旨

### 機能性疎水性ベンジルアルコール担体の開発と液相ペプチド合成への応用 Development of Functional Hydrophobic Benzyl Alcohol Tags Toward Liquid Phase Peptide Synthesis

応用生命科学専攻 生物機能化学講座  
若松 弘起

ペプチドや核酸は中分子医薬品に分類され、従来の低分子医薬品と同様に有機合成化学的に安価に大量合成できる点と高分子のタンパク医薬品の高い特異性をもち幅広い疾患領域を対象とできる点の両方の利点を併せもつと期待されている。ペプチド合成の主流となっている固相法は分離精製操作が簡便であり、自動合成やコンビナトリアル合成を可能にしている。一方で、液相法は高い反応性が獲得されるとともに、TLCやMS、NMRといった従来の分析技術による反応のモニタリングが可能となる。我々の研究室では、疎水性ベンジルアルコールを可溶性担体として用いた液相ペプチド合成を開発してきた。本手法では、担体を導入したペプチドが各反応終了後に沈殿として高純度かつ定量的に回収できるため、カラムクロマトグラフィー等の分離精製操作なしに数十段階に上る化学反応を実現できる。一方で、このような可溶性担体を用いた化学合成では、厳密な溶解性の制御が重要な課題である。1%の損失が数十段階後には著しい収率の低下を招いてしまうため、反応時には十分溶解し、回収時には固体として確実に回収する必要がある。

本研究では、ベンジルアルコールという基本骨格をもち、その溶解特性を保持しながら、発色性、蛍光性、適度な酸耐性のような機能性を有する疎水性ベンジルアルコール担体を開発し、液相ペプチド合成や新たな定量法へ応用することを目的とした。まずベンジルエステルの反応性が、担体のベンゼン環の置換位置によって制御できることと、2,4-位に長鎖アルキル鎖をもつ担体が、酸によって溶解性の低い赤紫色に発色するオリゴマーを形成することに着目し、他の置換様式において、より優れた溶解性と発色性をもつオリゴマーを形成すると考え、置換様式の探索を行った。その結果、2,4,5-置換において脱アルキ

ル化反応を伴うイプソ置換反応により，酸性条件下で鮮やかな青色に発色し，2,4-置換由来の発色性オリゴマーよりも溶解性の高い二量体が形成することを発見した．2,4,5-置換の疎水性ベンジルアルコール担体は，精密な溶解性の制御も可能であり，5残基のモデルペプチドを高効率に合成可能であることを確認した．また TLC 上でも鮮やかな青色に発色するために，担体が結合した化合物の容易な反応モニタリングが可能であった．さらに，酸によって脱保護される保護基やアミノ酸や縮合剤などの共存下では定量性が落ちるものの，配列の長さやアミノ酸種に依存しない，酸による発色性を利用した定量法の可能性が示された．

続いて，適度な酸耐性をもつことで Boc 法と Fmoc 法を併用でき，全脱保護条件下で速やかに脱離可能な担体の開発を目的に，2,5-置換の疎水性ベンジルアルコール担体を合成した．トリフルオロ酢酸や  $\text{HNO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{SO}_4$  などでは担体も脱離してしまったが， $\text{HCl}$  の滴下により反応を開始することで Boc 基の選択的な脱保護を達成した．このとき，2,5-置換担体は，TLC 上および溶液状態において酸性条件下で鮮やかな緑色に発色することを確認した．さらに 2,5-置換担体もしくは担体が結合したペプチドやアミノ酸が，光酸化によって担体が脱離し aldehyde を形成することで蛍光性を示すことを発見した．この光酸化による担体の蛍光性は，アミノ酸種やペプチド配列の長さ，芳香族性の側鎖，保護基に依存しないことがわかり，その蛍光性を利用した定量法へと応用し，酸による発色性を利用した定量法と比較し，約 1000 倍感度が向上させることができた．TLC 上においても，酸による緑色の発色性に加えて，UV 照射により蛍光性を示すために，簡便かつ高感度に反応をモニタリングが可能となった．さらに 2,5-置換の担体は，溶解性の制御においても従来の担体と変わらない機能を保持し，Boc 法と Fmoc 法を併用し，2 残基目に Pro を有する 7 残基のモデルペプチドの高効率な合成に成功した．この際に，全脱保護条件において 2,5-置換担体が容易に脱離可能であることも確認した．担体導入時のエピマー化についても確認したところ，NMR を用いて簡便に確認できることを発見し，ほとんどエピマー化が起こっていないことを確認した．さらに，光によって担体の脱保護が可能であることは，酸塩基，酸化還元に加えて新たな脱保護手段を得たといえる．

これらの結果から，精密な溶解性の制御が重要である可溶性担体を用いた化学合成において，最小限の構造修飾によって，その溶解特性を保持しながら発色性や蛍光性の付与，精密な酸耐性の制御，光による脱保護が可能となった．このような機能が，可溶性担体化学の可能性をさらに広げることが期待される．さらに可溶性担体化学だけではなく，2,4,5-置換において形成される二量体は，酸を吸着する性質を応用した相関移動触媒への応用，2,5-置換の担体は，光感受性ユニットとして核酸分子の新たな機能性獲得への応用など，創薬や分子生物学，遺伝子工学への応用も期待される．