



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	(Trifluoromethyl) phenyldiazirines in photoaffinity labeling : Improved synthesis, functionalization, and application [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	王, 磊
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(農学)
Dissertation Number	甲第12435号
Issue Date	2016-09-26
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/63721
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Wang_Lei_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称	博士（農学）	氏 名	Lei Wang
審査担当者	主査	准教授	橋本 誠
	副査	教授	橋床泰之
	副査	特任教授	生方 信
	副査	准教授	松浦英幸
	副査	助教	村井勇太 (先端生命科学研究院)

学位論文題名

(Trifluoromethyl)phenyldiazirines in photoaffinity labeling: Improved synthesis, functionalization, and application
(トリフルオロメチルジアジリンによる光アフィニティーラベル：改良合成、機能化およびその利用)

本論文は英文 130 頁，図 46，表 15，6 章からなり，参考論文 7 編（内総説 1 編）が付されている。

生理活性化合物の機能解析において，生体高分子との結合様式を解明することが重要となる．この目的の達成には生理活性化合物—生体高分子複合体を反映した解析が必要となり，光アフィニティーラベル法が有用な解決策の一つである．光アフィニティーラベルには生理活性化合物中に光反応性基を導入する必要がある，古から様々な有機反応が利用されてきた．光反応性基の中でも三員環トリフルオロメチルジアジリン（TPD）は、光照射前の化学的安定性ならびに光照射後の高い反応性から最も有用なものとして認識されてきたが、骨格合成に多段階反応が必要であるためその汎用性に問題があった．本研究は各素反応を精査する事により、トリフルオロメチルジアジリンを用いた光アフィニティーラベル法の改良を試みた結果をまとめたものである．

1) Improved Synthesis of TPD and Corresponding Application

TPD 合成に必要な反応系を精査する中で，これまでトシルオキシムからダイジリジンを経てジアジリンに変換する反応経路が取られていたが，液体アンモニアを密封系で長時間反応させる事により、トシルオキシムから直接ジアジリンに変換できる事を見出した．様々な条件の検討によりこの反応進行には-NH₂ が重要である事が明らかとし、LiNH₂ を添加する事で反応の迅速化に成功した．この知見を元に，これまで達成する事のできなかった光学活性 α -アミノ酸フェニルアラニンの芳香環上にジアジリンを直接構築する事にもあわせて成功し， α -位の立体配置に関わらず TPD 化する事に成功した．

2) TfOD-Mediated H/D Exchange of Cross-Linkable Aromatic α -Amino Acids

芳香族 α -アミノ酸を重水素化トリフルオロメタンスルホン酸(TfOD)処理し、芳香環上水素に対し水素-重水素交換を起こす反応を，光アフィニティーラベル用官

能基群を含む生体高分子へのクロスリンク能を持つ α -アミノ酸誘導体へ適応した。その結果カテコール骨格を持つ L-ドーパは 0°C, 20 分以内で 90%以上の芳香族水素が重水素へと交換し, α 位, β -位への重水素導入は認められなかった。光アフィニティーラベル用官能基群の多くが同条件下, 重水素交換が起こらなかったのに対し, TPD は最大 70%程度の重水素交換が認められることを明らかとした。

3) Metabolic Study of Photoreactive Aromatic α -Amino Acid Derivatives with *Klebsiella* sp. CK6

熱帯泥炭土壌から単離され, 芳香族 α -アミノ酸を代謝する事が知られている *Klebsiella* sp. CK6 に各光反応性基を持つ L-フェニルアラニン誘導体を投与し, その代謝産物を解析した。その結果, TPD 誘導体はフェニル乳酸型の代謝を受けるのに対し, アリールアジド, ベンゾフェノン誘導体はフェニル酢酸型の代謝産物を主生成物とする事が明らかとなり, 異なる代謝関連酵素を光アフィニティーラベル可能性が示唆された。

4) TPD-Based Photoreactive Saccharins for Photoaffinity Labeling of Gustatory Receptors

サッカリンは人工甘味料として古くから知られているが, 甘味受容体との相互作用に関する知見は明らかとされていない。サッカリンの二環性スルホンアミド構造はその合成が難しく, 限られた誘導体による構造活性相関が知られているのみであった。1 項で確立した反応により, 効率的なサッカリン TPD 誘導体 2 種の合成に成功し, これらは母核のサッカリンと同程度の甘味を示すことを明らかとした。

5) Preparation of Photoreactive 1'-Sucrose: A Cosolvent-Promoted O-Benzoylation Strategy with Silver(I) Oxide

TPD による光アフィニティーラベルを糖質群にも適応するため, 甘味物質としても知られているスクロースへの位置選択的的化学修飾を検討した。スクロース 1' 位の一級水酸基は化学修飾を施しても甘味活性に影響を与えない事が知られているが, 分子内にある他 2 つの一級水酸基と比較して反応性が極めて低く, その化学修飾は容易ではなかった。そこで酸化銀を用いたベンジルエーテル形成反応を精査した所, 1' 位一級水酸基の低い反応性のため競争反応的にベンジル化試薬が分解し, 収率が低くなる事を見出した。この問題を解決するために, ヘキサン等の非極性溶媒を用い分解を防ぎながら, ジクロロメタン等の反応原料溶解性の高い溶媒を混合する手法を確立し, スクロース TPD 誘導体の合成に成功した。

以上, 本研究では TPD 構築法の改良から母核構造への導入法の確立ならびに代謝産物解析までを行ないその有用性を明らかとした。以上の成果は, 光アフィニティーラベルによる生理活性物質の機能解析に大きく寄与するものである。

よって審査員一同は, Lei Wang 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。