

触媒的不斉合成が拓くβ-ペプチド含有創薬の新時代

公益財団法人微生物化学研究会 微生物化学研究所有機合成研究部

野田 秀俊

1. 目的・背景

インスリンに代表されるペプチドホルモンは多様な生理活性の宝庫でありながら、生体内で容易に代謝分解されることから従来の創薬では脚光を浴びることがなかった。しかし近年のペプチドミメティクス手法の発達とともに、ペプチド創薬への注目は近年増加の一途を辿っている。特にSeebach、Gellmanらによって導入されたβ-ペプチドは、特徴的な2次構造を取ることが示されており、タンパク質間相互作用阻害剤の開発を目指した研究が盛んである。また生理活性発現に必須であるターン構造を模倣するにはβ²-アミノ酸が必要であることも知られている(図1a) [1, 2]。

これまでも数多くのβ-アミノ酸合成法が報告されているが、ペプチド化学者のニーズを満たす、1) Fmocアミノ酸を、2) 光学的に純粋な形で供給可能な方法論は、現代有機合成化学の力量を以てしても極めて少ない。天然型側鎖を有するβ³-アミノ酸は安価なα-アミノ酸からArndt-Eistert反応により、光学的に純粋な形で供給可能である[3]。しかしその位置異性体であるβ²-アミノ酸に関しては上記要求を満たす方法論は皆無である[4]。そのため多数の特長が知られている有望な合成素子でありながら、β³-アミノ酸と比較し汎用されるに至っていない。

現在この分野は合成素子の入手容易性が分子設計を大きく制限しており、適切な方法論の開発により大きく飛躍する可能性を秘めている。そこで本研究提案では容易に合成可能なβ-アラニン等価体を設計し、それを用いたβ²-アミノ酸の触媒的不斉合成反応の開発を目標とした。

2. 方法

β-アラニン様の基質を用いた不斉触媒によるα位の官能基化は、一見すると最も直接的なアプローチに映

る。しかしながら通常のカルボン酸誘導体のα位水素の酸性度は低いため、穏和な塩基性条件下において、触媒的に活性種を生成させることは極めて困難である。そのため、現在においてもLDA等の強塩基を化学量論量用いた手法が頻用されているのが実情である。このような課題を克服するためにβ-アラニン等価体として環状ヒドロキシルアミンを設定した。この設計により、1) 触媒的不斉反応成績体はBodeらの方法によりエピマー化を経ることなく容易にα,β[□]-ジペプチドへと変換可能[5]、2) 窒素上に電子吸引性の保護基を導入することでα位水素の酸性度を十分に上げることが可能となると期待した。さらに予備的なDFT計算によると、α位水素の気相中の酸性度はアセトンよりも高

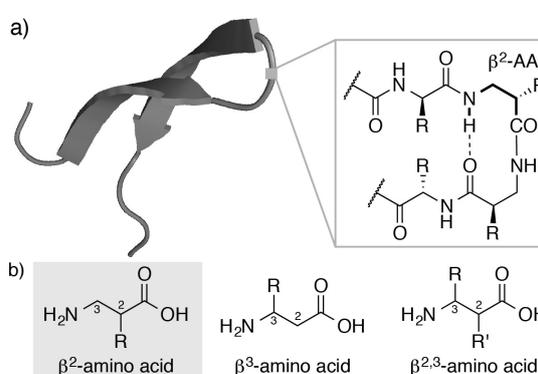


図1. (a) ターン構造の模倣に必須であるβ²-アミノ酸ユニット. (b) β-アミノ酸の種類とその構造.

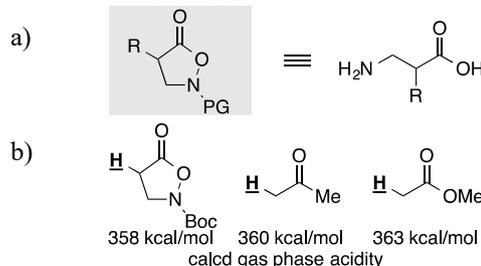


図2. (a) 環状ヒドロキシルアミンの設計. (b) DFT計算による気相中でのα位水素の酸性度.

酸となることを期待した。さらに予備的なDFT計算によると、α位水素の気相中の酸性度はアセトンよりも高

いとの見解を得ており、本設計指針の妥当性が伺えた (図2) [6]。

また最近の β -ペプチド化学の研究動向として、 β -ペプチドの高い凝集性のため、 β -ペプチド単体よりも α,β -混合型ペプチドとしての利用が主流となっており、Fmoc保護された α,β -ジペプチドへと容易に誘導可能であることは大きな利点だと考えた。

3. 結果

設計した環状ヒドロキシルアミン類は対応するアクリル酸誘導体、またはメルドラム酸誘導体から短工程にて合成した (図3a)。続いて、

得られた基質が期待通りに穏和な塩基性条件下、脱プロトン化可能か否かを確認した。メチル基を有する基質のエナンチオマーを、キラル分取HPLCを用いて分離した後、塩基性条件に伏すことで、光学純度の変化を調べた。その結果、LiOtBu等の求核性塩基を作用させた場合にはラクトン部位の開環が観測されたのに対し、DBUなどのアミン塩基を用いた場合にはラセミ化した基質がほぼ定量的に回収された。このことからアミン塩基を用いることで、脱プロトン化が副反応を伴うことなく速やかに進行すると結論付けた (図3)。

求核種であるエノラートの生成が担保されたため、続いて適切な求電子剤の探索を行った。現在までのところ、数種の求電子剤が生成したエノラートと円滑に反応することで高収率にて付加体を与えることを見出しているが、本稿ではN-BocイミンへのMannich型反応について述べる。付加反応はアミン塩基のみで進行したことから、キラルBrønsted塩基触媒の利用による不斉誘起をまず検討した。しかしながら市販されているキラルグアニジン数種を用いた検討では、反応が進行しない、またはラセミ体を得られたのみであった。そこでキラルLewis酸/Brønsted塩基触媒による不斉誘起へと焦点を移して検討を継続した。種々のLewis酸性金属源と不斉配位子の検討を行ったところ、Ag(I)/キラルリン配位子、またはIn(III)/キラルジオール配位子からなる触媒系を用いることで、中程度の不斉収率を得ることに成功している。今後も検討を継続していくことで、さらなる選択性の向上が可能だと考えている (図4a)。

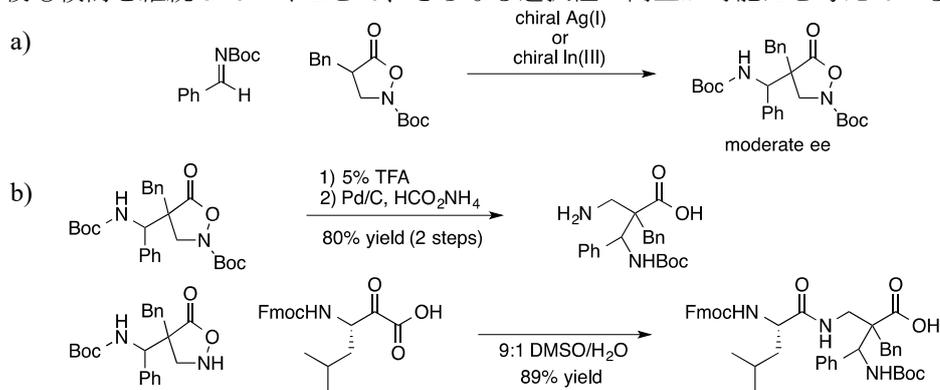


図4. (a) N-Bocイミンへの触媒的不斉Mannich型反応. (b) Mannich反応成績体の β -アミノ酸及びジペプチドへの変換反応例.

得られたMannich付加体中の2つのBoc基は選択的に除去することが可能であり、還元条件に伏すことでN-O結合の開裂が起こり、 β -アミノ酸を高収率にて与えた。またロイシン由来の α -ケト酸と混合する

ことでKAHAライゲーションが進行し、Fmoc保護された α,β^{\square} -ジペプチドへの誘導も可能であった(図4b)。

4. まとめ

上述の結果より、本研究提案において設計した環状ヒドロキシルアミンは、1) 穏和な塩基性条件によって脱プロトン化され活性種を生成可能であること、及び、2) ヒドロキシルアミン部位を足がかりとした変換反応によってペプチド化学に即座に適用可能な合成素子を提供可能であること、が明らかとなった。このことは本基質の β -アラニン等価体としてのポテンシャルを示すものであり、研究の基本方針を変える必要はない。しかし、2016年10月にフランスの研究グループによって本研究とほぼ同様のコンセプトによる報告がなされたため[7]、研究の焦点をより応用方面へと移していく必要があると考えている。彼らの報告では炭素-硫黄結合形成を伴う反応によって高い不斉収率を得ているが、生成物の機能評価などの検討は行っていない。我々は炭素-炭素結合の形成を伴う α 位に4級炭素を含む β^2 -アミノ酸の触媒的不斉合成に絞り、それら合成素子がペプチド2次構造に及ぼす影響を評価していくことで差別化を図っていく予定である。

5. 参考文献

- [1] Cheng, R. P.; Gellman, S. H.; DeGrado, W. F. *Chem. Rev.* **2001**, *101*, 3219–3232.
- [2] Seebach, D.; Gardiner, J. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1366–1375.
- [3] Podlech, J.; Seebach, D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **1995**, *34*, 471–472.
- [4] Seebach, D.; Beck, A. K.; Capone, S.; Deniau, G.; Grošelj, U.; Zassb, E. *Synthesis* **2009**, 1–32.
- [5] Bode, J. W.; Fox, R. M.; Baucom, K. D. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2006**, *45*, 1248–1252.
- [6] All DFT calculations were performed at the M06-2X/6-311++G(d,p) level of theory, using Gaussian 09 suite.
- [7] Cadart, T.; Berthonneau, C.; Levacher, V.; Perrio, S.; Brière, J.-F. *Chem. Eur. J.* **2016**, *22*, 15261–15264.