

新規アミノ酸モノマーの設計と合成：縮合剤を用いない α -ペプチド合成への展開

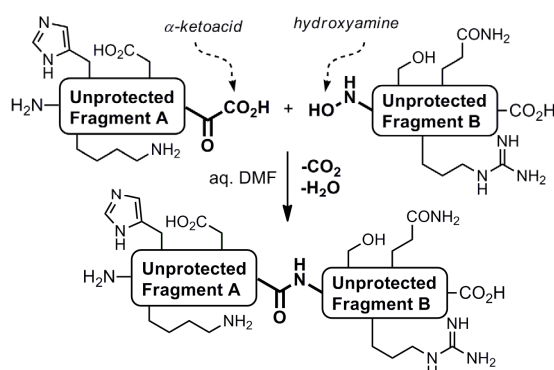
東京医歯大・生材研 ○鳴海哲夫、清家俊輔、玉村啓和

ETH-Zurich Jeffery W. Bode

はじめに

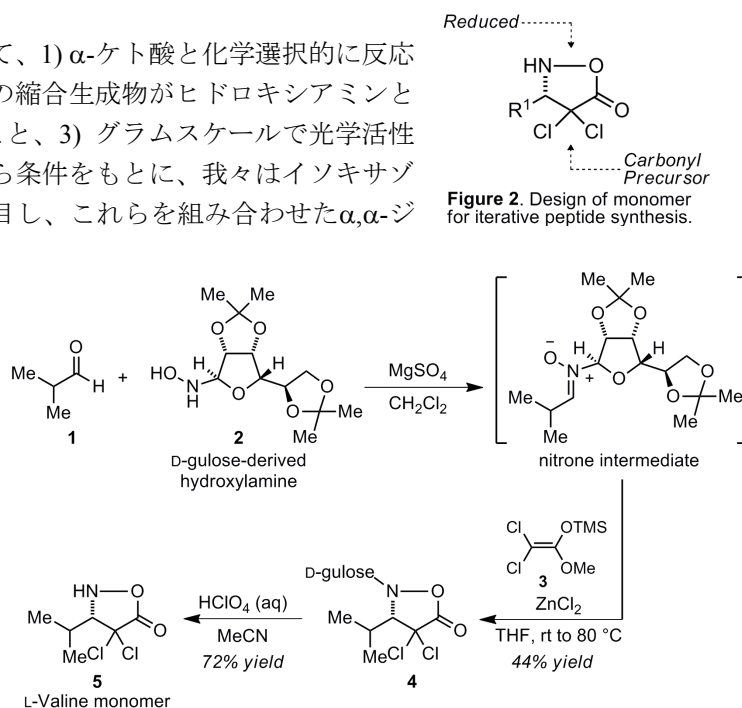
ペプチドの化学合成技術は固相担体上での合成法や縮合剤および添加剤の開発により著しい進歩を遂げ、これら合成技術を基にペプチドの化学合成が行われている。ペプチドは通常、アミノ基や側鎖を保護した保護アミノ酸を活性エステルへと誘導し、アミノ基と反応することでアミド結合を形成、続いて脱保護によるアミノ基の生成、これを繰り返すことで化学合成するのが一般的である。しかしながら、これら合成法は一つのアミド結合を形成するのに過剰量の縮合剤および添加剤を用いること、活性化・縮合・脱保護の繰り返しのに伴い、縮合剤および添加剤由来の副産物が量論量生成することなどが問題である。そこで、これら副産物を生成しない環境調和型かつ化学選択的なペプチド合成が注目を集めている。

これまでに我々は、アミノ酸由来の α -ケト酸とヒドロキシアミンを加熱条件下攪拌することで縮合反応が進行し、対応する α -オリゴペプチドが得られることを見出している (Figure 1)¹⁾。本縮合反応では、アミノ酸の側鎖を無保護のまま、さらに補助基や添加剤なしに α -ケト酸とヒドロキシアミンが化学選択的に反応し、対応するアミド化合物が得られる。この α -ケト酸とヒドロキシアミンの化学選択的な縮合反応を連続するペプチド合成へ展開することができれば、活性化・脱保護を必要としない効率的かつ実用的なペプチド合成法になると考えた。そこで今回我々は、本反応を基盤とした連続的な α -ペプチド合成法の開発を目指し、新規 α -アミノ酸モノマーの開発を行った。

Figure 1. Chemoselective ligation of α -ketoacid and hydroxyamine α -アミノ酸モノマーのデザイン・合成

新規 α -アミノ酸モノマーに必要な条件として、1) α -ケト酸と化学選択的に反応しアミド化合物を与えること、2) α -ケト酸との縮合生成物がヒドロキシアミンとの縮合反応前駆体 (α -ケト酸前駆体) であること、3) グラムスケールで光学活性体が合成可能であることが挙げられる。これら条件をもとに、我々はイソキサゾリジノンおよび α,α -ジクロロカルボン酸に着目し、これらを組み合わせた α,α -ジクロロイソキサゾリジノン型モノマーをデザインした (Figure 2)。イソキサゾリジン類は、 α -ケト酸と効率よく反応し N-O 結合の切断を経てアミド化合物を与えることから²⁾、モノマーの母格として適していると考えた。また、*gem*-ジハロメチレンは加水分解することでアルデヒド類へと誘導が可能であり³⁾、特に α,α -ジクロロカルボン酸は経口血糖降下薬 Saxagliptin 合成における α -ケト酸前駆体として実用化されている⁴⁾。

本化合物は Vasella らによって報告された光学活性なニトロン⁵⁾とジクロロケテンシ

Scheme 1. Preparation of L-Valine-derived α,α -dichloroisoxazolidinone monomer.

化反応、続いて過塩素酸処理により中程度の収率で合成することができた (Scheme 1)。また、異なるアルデヒドを用いることで、Val 型モノマーだけでなく、Ala 型、Leu 型、Phe 型モノマーなども合成した。

α-アミノ酸モノマーの反応性

これまでの研究からα-ケト酸とヒドロキシアミンの縮合反応は、溶媒効果が重要であることがわかっている^{1,2)}。そこで、α-ケト酸としてフェニルピルビン酸を用いて、縮合反応に効果的な溶媒の探索を行った (Table 1)。ジクロロメタンやトルエンなどの非極性溶媒中では、縮合反応がほとんど進行しないのに対し (entries 1-2)、DMF や DMSO などの極性溶媒中では目的とするアミド化合物 7 が得られた (entries 3-4)。さらに、種々の溶媒を検討する中で、プロトン性溶媒-水混合溶液中では円滑に反応が進行し (entries 5-9)、特にメタノール-シュウ酸水溶液中においてアミド化合物 7 が良好な収率で得られることを見出した (entry 11)。また、メタノールのみでは縮合反応がほとんど進行しないことから (entry 12)、水が本反応に大きく寄与していることが示唆された。

α,α-ジクロロカルボン酸からα-ケト酸への変換

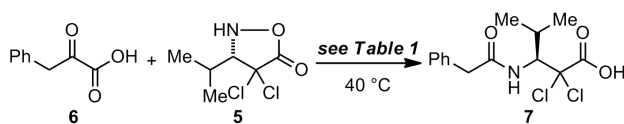
α,α-ジクロロカルボン酸を塩基性水溶液中加熱することで、α-ラク톤を経てα-ケト酸に加水分解されるという知見を基に⁴⁾、フェニルピルビン酸とモノマー 5 から得られたアミド化合物 7 (ジクロロカルボン酸) のα-ケト酸への変換について検討を行った (Table 2)。LiOH, K₃PO₄, Na₂CO₃ ではオキサゾール体 9 が得られるのみであり、α-ケト酸 8 は全く得られてこなかった (entries 1-3)。目的とする反応は AcONa やクエン酸ナトリウムなど弱塩基を用いることで進行し (entries 4-7)、シュウ酸カリウムを用いた場合に最も良い結果を与え、中程度の収率で目的のα-ケト酸 8 が得られた (entry 8)。光学純度を調べるために、得られたα-ケト酸 8 に N-ベンジルヒドロキシアミン塩酸塩 10 を作用させ、アミド体 11 へと誘導したところ顕著な光学純度の低下が認められ (式 1)、加水分解中でのラセミ化が示唆された。現在、さらなる加水分解条件について検討中である。

まとめ

今回我々は、α-ケト酸とヒドロキシアミンの化学選択的縮合反応を基盤とした連続的ペプチド合成法の開発を目指し、キラルなα,α-ジクロロイソキサゾリジノン型α-アミノ酸モノマーを創製した。本化合物はα-ケト酸と円滑に反応し、α-ケト酸前駆体であるα,α-ジクロロカルボン酸を与え、加水分解によりα-ケト酸へと変換可能であることがわかった⁶⁾。さらに、得られたα-ケト酸はヒドロキシアミンと反応し、対応するアミド化合物を与えたことから、本系をさらに精査することで活性化・脱保護を必要としない連続的ペプチド合成法の一つとなり得ると考えられる。また、本発表では gem-アリルジクロリドの特異な反応性を応用した新たなアミド結合等価体の合成についても検討を行ったので併せて報告する。

References: 1) Bode, J. W.; Fox, R. M.; Baucom, K. D. *Angew. Chem., Int. Ed.*, **2006**, *45*, 1248. 2) Carrillo, N.; Davolas, E. A.; Russak, J. A.; Bode, J. W. *J. Am. Chem. Soc.*, **2006**, *128*, 1452. 3) Li, W.; Li, J.; DeVincentis, D.; Mansour, T. S. *Tetrahedron Lett.*, **2004**, *45*, 1071. 4) Godfrey Jr., J. D.; Fox, R. T.; Buono, F. G.; Gougoutas, J. Z.; Malley, M. F. *J. Org. Chem.*, **2006**, *71*, 8647. 5) A. Vasella, *Helv. Chim. Acta*, **1977**, *60*, 1273. 6) Narumi, T.; Bode, J. W. *Heterocycles*, **2011**, prepress.

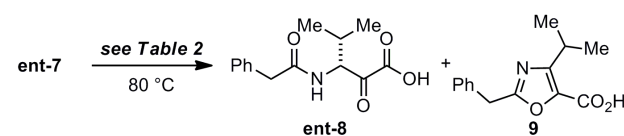
Table 1. Conditions for amide-forming reactions of α-ketoacids 6 and Val monomer 5



entry	conditions	conversion (%) ^a
1	CH ₂ Cl ₂ (0.1 M)	nr
2	toluene (0.1 M)	nr
3	DMF (0.1 M)	27 ^b
4	DMSO (0.1 M)	25 ^b
5	1:1 H ₂ O/ ⁱ BuOH (0.1 M)	12
6	1:1 H ₂ O/ ⁱ BuOH (0.2 M)	31
7	1:1 H ₂ O/ ⁱ PrOH (0.2 M)	55
8	1:1 H ₂ O/ ⁱ EtOH (0.2 M)	75
9	1:1 H ₂ O/MeOH (0.2 M)	77
10	1:1 pH 5.3 Acetic buffer/MeOH	77
11	1:1 pH 6.1 Oxalic buffer/MeOH	90 [64] ^c
12	MeOH	trace

^a determined by ¹H-NMR. ^b A significant amount of unidentified products was detected. ^c isolated yield (%).

Table 2. Conditions for conversion of α,α-dichloroacid 7 to α-ketoacid 8.



entry	conditions (1.0 M aqueous solution)	conv. to 8 (%) ^a	conv. to 9 (%) ^a
1	LiOH	nd	73
2	K ₃ PO ₄	nd	>90
3	Na ₂ CO ₃	nd	40
4	AcONa	43	39
5	Na ₂ HPO ₄	26	26
6	sodium citrate	44	33
7	K ₂ HPO ₄	60	22
8	potassium oxalate	62 [48] ^b	33

^a determined by RP-HPLC. ^b isolated yield (%).

