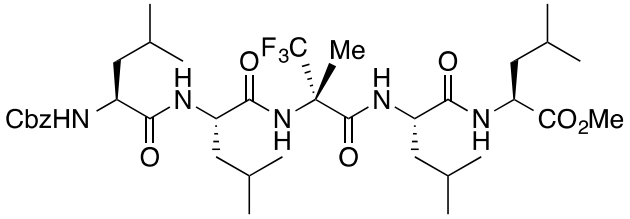
98　フッ素導入ジ置換アミノ酸合成と機能性ペプチドの創出	上田　篤志

【目的】天然のL-α-アミノ酸のα位の水素をアルキル基で置換したものは、α,α-ジ置換アミノ酸と呼ばれており、天然のL-α-アミノ酸にはない特徴を有する。今回、α位にフッ素を導入したアルキル基を有する光学活性なα，α-ジ置換アミノ酸を導入したアミノ酸を合成し、ペプチド中に導入することでペプチドの機能化を目指した。

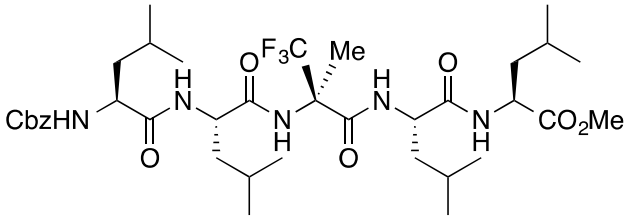
【方法】α-トリフルオロメチルアミノ酸をラセミ体で合成し、その後に光学分割するアプローチを計画した。そしてα-CF_3-ジ置換アミノ酸をロイシンペプチド中へ導入して得られるペプチドの二次構造解析を行うことで、α-CF_3-ジ置換アミノ酸がペプチド全体へ与える影響を調べた。

【結果】入手容易な出発原料から、種々のラセミ体α-トリフルオロメチルアミノ酸を3工程で合成することができた。合成したラセミ体の光学分割は（*R*）-BINOLエステルへと誘導化することで達成し、光学純度の高いアミノ酸を得ることができた。この光学活性体をペプチド中に導入することで、ペプチドの二次構造に関する様々な情報を得ることができ、今後機能性ペプチドのデザインに応用することが期待される。

フッ素導入ジ置換アミノ酸含有ペプチド



(*S*)-5



(*R*)-5

98. フッ素導入ジ置換アミノ酸合成と機能性ペプチドの創出

上田　篤志

長崎大学 大学院医歯薬学総合研究科 生命薬科学専攻 分子創薬科学講座 薬化学分野

Key words：α，α-ジ置換アミノ酸，ペプチド，トリフルオロメチル

緒　言

天然のL-α-アミノ酸のα位の水素をアルキル基で置換したものは、α，α-ジ置換アミノ酸と呼ばれており、天然のL-α-アミノ酸にはない特徴を有する。これらの特徴として、例えば、化学的安定性の増大、脂溶性の増大、アミノ酸側鎖の自由度の制限、含有ペプチドのコンフォメーション自由度の制限、含有ペプチドの生体内での安定化、などが挙げられる（Figure 1）[1]。Toniolo らは、2-アミノイソ酪酸からなるペプチドの合成と二次構造解析を行っており、そのホモオクタペプチドの二次構造は溶液中でも結晶状態でも、ともに 3_{10}-ヘリックス構造を示すことを報告しており、右巻きと左巻きのヘリックスが 1 : 1 で存在していた [2]。一方で、側鎖のアルキル基が 1 炭素伸びたジエチルグリシンからなるホモペンタペプチドは、ペプチド主鎖が完全に伸びきったプラナー構造を取ることが知られている [3]。さらに、田中らはキラルな 5 員環状ジ置換アミノ酸からなるホモヘキサペプチドにおいて、二次構造が右巻きに制御される一方で、そのα炭素がジアステレオマーの 5 員環状ジ置換アミノ酸からなるホモヘキサペプチドが右巻きと左巻きの混合物として得られることを報告している [4]。このことは、ジ置換アミノ酸においても、α位の不斉炭素がそのペプチド二次構造へ影響を及ぼすことを示唆している。そこで今回、α位にフッ素を導入したアルキル基を有する光学活性なα，α-ジ置換アミノ酸を導入したアミノ酸を合成し、ペプチド中に導入することでペプチドの機能化を目指した。

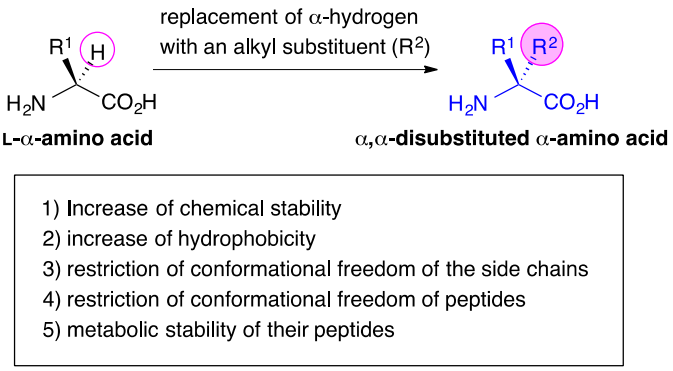


Figure 1.　α，α-Disubstituted α-amino acids.

方　法

1. α-トリフルオロメチルアミノ酸の合成

CF_3 基を始めとしたフッ素置換基は多くの医薬品に見られる重要な官能基であるが、ペプチドへの導入例は少ない。特にα-CF_3-ジ置換アミノ酸に関しては、光学純度の高いα-CF_3-ジ置換アミノ酸の合成法が確立されていない事が一因として考えられる。Ulrich らはα-CF_3-アラニンの合成を行いペプチド中へ導入しているが、両側を特定のアミノ酸とつないだトリペプチドにしなければα-CF_3-ジ置換アミノ酸の異性体分離はできなかった。その他に、Zanda らは Ellman イミンを用いているが、求核付加の段階で不斉補助基であるキラルスルホキシドが異性化してしまい、最終的

にエナンチオマーも含め 4 種の異性体が生成するため、純度の高いアミノ酸を得る事が困難だった。今回、鍵となる α-トリフルオロメチルアミノ酸をラセミ体で合成し、その後に光学分割するアプローチを計画した。カルボン酸部位にキラルなアルコールを導入することで分割が達成できると考えた。

2. ペプチドへの導入

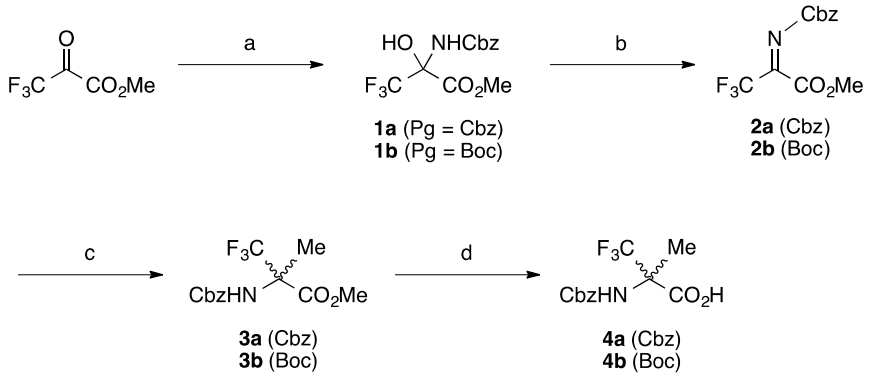
合成した α-CF_3-ジ置換アミノ酸を一般的な液相法でロイシンペプチド中へ導入した。そして得られたペプチドの二次構造解析を行うことで、α-CF_3-ジ置換アミノ酸がペプチド全体へ与える影響を調べる。

結果および考察

1. ラセミ体の α-トリフルオロメチルアミノ酸の合成

ラセミ体の α-トリフルオロメチルアミノ酸の合成から着手した。まず入手容易なトリフルオロメチルピルビン酸メチルをカルバメートで処理したのち、イミン 2a および 2b とした。そしてメチルマグネシウムブロミドを付加させることでラセミ体の α-トリフルオロメチルアミノ酸 3a および 3b を高い収率で合成した。メチルエステル部位を加水分解することでカルボン酸 4a および 4b とした。

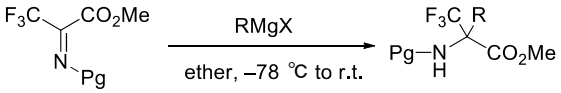
Scheme 1. Synthesis of racemic α-trifluoromethyl α-amino acids.[a]



[a]Reagents and conditions: (a) benzyl carbamate (for 1a) or *tert*-butyl carbamate (for 1b), CH_2Cl_2, rt (1a, quant; 1b, 99%); (b) trifluoroacetic anhydride, pyridine, Et_2O, 0 °C; (c) methylmagnesium bromide, Et_2O, –78 °C to rt (3a, 75% in 2 steps; 3b, 70% in 2 steps); (d) NaOH aq, MeOH, rt (1a, 98%; 1b, 97%).

上記のイミン 2 から 3 への変換で、メチルマグネシウムブロミドの代わりに種々のグリニャール試薬を作用させたところ、いずれも容易に付加体が得られ、メチル基以外にもエチル基、イソプロピル基、イソブチル基、ベンジル基、4-ペンテニル基と幅広い側鎖構造を有する α-トリフルオロメチルアミノ酸の合成に応用できることがわかった (Table 1)。

Table 1. Addition reaction to imine 2a and 2b.



2a (Pg = Cbz)
2b (Pg = Boc)

3a (Pg = Cbz)
3b (Pg = Boc)

Entry	Pg	R	X	yield (%)*
1	Cbz	Me	Br	75
2	Cbz	Et	Cl	45
3	Cbz	*i*-Pr	Cl	39
4	Cbz	*i*-Bu	Br	32
5	Cbz	$PhCH_2$	Cl	70
6	Cbz	4-pentenyl	Br	63

Entry	Pg	R	X	yield (%)*
7	Boc	Me	Br	70
8	Boc	Et	Cl	57
9	Boc	*i*-Pr	Cl	48
10	Boc	*i*-Bu	Br	59
11	Boc	$PhCH_2$	Cl	73

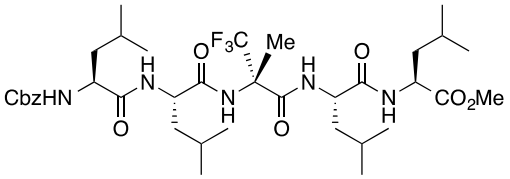
*Yields from hemiaminal **1**.

2. 光学活性α-トリフルオロメチルアミノ酸の合成

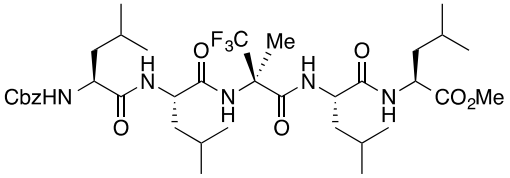
得られた、α-トリフルオロメチルアミノ酸のカルボン酸体 4a および 4b をキラルなアルコール体とエステル化し、ジアステレオマーとすることで、分離が可能かを検討した。まず、安価な（–）-メントールや（–）-ボルネオールとのエステルは TLC 上で 1 スポットとなりカラムでの分離が不可能であった。一方で、(*R*)-BINOL を用いたところ、そのエステル体はカラムで分離することができたため、分離後加水分解もしくはエステル交換反応により光学活性 α-トリフルオロメチルアミノ酸の合成を達成した。*N*-Boc 体では分割がうまくいかなかったが、*N*-Cbz 体を用いることで、側鎖がメチル基以外のものに関しても、分割できることがわかり、幅広い光学活性 α-トリフルオロメチルアミノ酸の合成に応用することができた。

3. ペプチドの合成と二次構造解析

次に α-トリフルオロメチルアミノ酸のカルボン酸体 4a および 4b をペプチド中に導入することを検討した。C 末端側でのカップリングは EDCI を縮合剤とすることで容易に行えたが、N 末端側でのカップリングに関しては多くの縮合剤において反応しなかった。これは恐らくトリフルオロメチル基の効果によりアミンの反応性が著しく低下したためと考えられた。最終的に酸無水物を利用する方法で、α-トリフルオロメチルアミノ酸を含んだペンタペプチド(*S*)-5 および (*R*)-5 を合成することに成功した（Figure 2)。2 次元 NMR、IR、CD、X 線にう構造の比較を行ったところ、5 残基程度ではペプチド二次構造に与える影響は限定的であった。他方、α-トリフルオロメチルアミノ酸を導入したペプチドは通常のペプチドに比べて著しく疎水性が向上することがわかった。



(*S*)-5



(*R*)-5

Figure 2. Peptides having optically pure α-trifluoromethyl α-amino acids.

共同研究者・謝辞

本研究の共同研究者は、長崎大学大学院医歯薬学総合研究科薬化学研究室の田中正一教授、大庭誠准教授、ならびに笠江卓矢修士、池田美鈴である。最後に、本研究をご支援いただきました上原記念生命科学財団に深く感謝いたします。

文　献

1） Tanaka M. Design and Synthesis of Chiral α,α-Disubstituted Amino Acids and Conformational Study of Their Oligopeptides. Chem. Pharm. Bull. (Tokyo). 2007 Mar;55(3):349-58. PMID: 17329870 DOI: 10.1248/cpb.55.349

2） Toniolo C, Bonora C M, Barone V, Bavoso A, Benedetti E, Di Blasio B, Grimaldi P, Lelj F, Pavone V, Pedone C. Conformation of pleionomers of α-aminoisobutyric acid. Macromolecules. 1985 May;18(5):895-902. DOI: 10.1021/ma00147a013

3） Toniolo C, Benedetti E. Structures of polypeptides from α-amino acids disubstituted at the α-carbon. Macromolecules. 1991 July;24(14):4004-9. DOI: 10.1021/ma00014a006

4） Nagano M, Tanaka M, Doi M, Demizu Y, Kurihara M, Suemune H. Helical-screw directions of diastereoisomeric cyclic alpha-amino acid oligomers. Org Lett. 2009 Mar 5;11(5):1135-7. PMID: 19191578 DOI: 10.1021/ol802963a