氏名・(本籍)	田地(たぢ) 宏美(ひろみ)
学位の種類	博士(理学)
学位記番号	理博第2107号
学位授与年月日	平成16年3月25日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
研究科,専攻	東北大学大学院理学研究科(博士課程)化学専攻
学位論文題目	キラルMαNP acid法の新展開:MSスペクトルを用いた鏡像体過剰決定
論文審査委員	(主査) 教授 原田宣之 教授 吉良満夫,甲國信

論文目次

第1章 序論

第2章 MSスペクトルを用いたジアステレオマー法による鏡像体過剰決定:速度論的光学分割因子の完全除去

第3章 MαNP acid法のアミノアルコールへの適用の試み

第4章 新規不斉補助基MαNP acidを用いたキラルな甲状腺ホルモンアナログKAT-2003の絶対配置決定

第5章 結論

第6章 実験の部

論文内容要旨

第1章 序論

生体が作りだす天然の有機化合物はキラリティーを持つものが多い。タンパク質を構成するL-アミノ酸や核酸のD-リボースはその典型的な例である。化合物のキラリティーは生命現象に深く関わっており,その生理活性や機能,作用機構の解明などの研究において化合物の絶対配置を決定することは非常に重要である。絶対配置の決定には, X線結晶構造解析とCD励起子キラリティー法の非経験的手法と,新Mosher法に代表されるNMRを用いた経験的手法がある。特に, NMRを用いた絶対配置決定法は経験的手法ではあるが,近年のNMR機器及び測定法の発展により,現在では数多く適用されている。当研究室で開発した新規不斉補助基2-メトキシ-2-(1-ナフチル)プロピオン酸(MαNP acid) **1** はこの方法論に有用なカルボン酸として見出された。MαNP acidは, 2級アルコールに対して大きな不斉識別能を有すること,ナフチル基の環電流による強力な磁気異方性効果を有すること,さらに不斉中心が4級でありラセミ化しないという特徴を持つ化合物である。これらの特徴からMαNP acidはアルコールの光学分割,および^{1}H NMRにおける磁気異方性効果を利用したアルコール類の絶対配置決定に対して非常に有用である。本

研究では MαNP acid 法の新展開として，MαNP acid の新しい利用法の開発，およびその基礎研究を行った。

第2章　MS スペクトルを用いたジアステレオマー法による鏡像体過剰決定：
速度論的光学分割因子の完全除去

キラル化合物の光学純度あるいは鏡像体過剰 (% ee) 決定する方法には旋光度法，クロマトグラフ法，NMR 法などが広く利用されているが，これらの方法にはそれぞれ一長一短がある。特に，ジアステレオマー誘導法ではジアステレオマーを形成する際の速度論的光学分割の効果が避けられない問題となっている。また近年，MS スペクトルを用いた方法が盛んに研究されており報告されている。MS スペクトル法は鋭敏さ，迅速さ，簡便さを兼ね揃えた方法であり，新しい鏡像体過剰決定法として注目されている。しかしながら，これらの方法にも光学的に純粋な化合物のデータが必要であることや，% ee 既知のサンプルを用いて検量線を作成しなければならないこと，精度が未だ十分ではないこと，適用化合物が限られている場合があるなど，解決すべき問題点が存在する。本研究では MαNP acid を用い，ジアステレオマー誘導法でありながら速度論的光学分割の効果を完全に除去した鏡像体過剰 (% ee) の決定法の開発に成功した。

光学純度検定試薬として MαNP acid (*S*)-**1**および重水素置換体 (*R*)-**1**-d_n (n = 3 or 6) を用い，種々の % ee に調製したアルコール **2** と同一フラスコ内で反応させ4種のジアステレオマーを得る。これらをシリカゲル HPLC により分離し，得られた第一，および第二溶出成分の軽水素体と重水素体の比を機器分析で検出し，それぞれの比から % ee を決定する方法を開発した。まず，重水素3置換カルボン酸（MαNP-d_3）を用い検討を行った。測定機器として ^{1}H NMR を用いたところ，計算値と実測値はよく一致し，本方法論が成立することが証明された。しかし，高い % ee の範囲では測定結果にばらつきが見られた。そこでより感度の鋭敏な MS スペクトルを用いたところ，すべての範囲において良好な結果を得ることができた。しかしながら，この場合はMSスペクトルでの天然同位体ピーク間の重なりがあり，4種類の補正を必要とするため，さらなる改善の余地があった。しかし，新たに調整した重水素6置換カルボン酸（MαNP-d_6）を用いることで，より精密かつ簡便な方法へと改良することに成功した (Figure 2)。MαNP-d_6 を用いた結果，天然同位体ピークの重なりは無視することができ，バックグラウンド補正のみで，計算値と実験値は良い一致を示した。本方法は，ジアステレオマー誘導法でありながら，速度論的光学分割因子を完全に排除した方法であり，従来の決定法と比べ簡便，かつ厳密に % ee を決定することができる。本方法の特徴として，光学的に純粋な化合物のデータを必要としないこと，また % ee 既知のサンプルを用いた検量線の作成が不要であること，もちろん速度論的光学分割効果のデータも必要ないことが挙げられる。

第3章　MαNP acid 法のアミノアルコールへの適用の試み

年代測定法にアミノ酸のラセミ化を利用したアミノ酸ラセミ化法があり，アミノ酸の *D*/*L* 比を測定することにより，生命活動が停止したあとの年代を推定できる方法である。アミノ酸の *D*/*L* 比とは，すなわちアミノ酸の % ee を求めることであり，MS スペクトルを用いた鏡像体過剰決定法をアミノ酸へ適用することが考えられる。本研究ではその基礎研究として，MαNP acid 法のアミノ酸由来アミノアルコールへの適用を検討した。また，MαNP acid の合成について新たな知見が得られたので，より簡便な合成法の開発を目指し検討を行った。

L-フェニルアラニノールに MαNP acid 法を適用した。縮合剤として BOP 試薬を用いて得られたアミド

のジアステレオマー混合物はHPLCによって光学分割することができた。また，そのカルボン酸部の絶対配置をCDスペクトル，および第一溶出成分より得られた単結晶のX線結晶構造解析により確実に決定した(Figure 3)。さらに，L-，およびD-allo-イソロイシノールについてもMαNP acid法を適用することができた。よって， MαNP acid 法がアミノアルコールに適用可能であることがわかった。今後，MSスペクトルを用いた鏡像体過剰決定法によるアミノ酸ラセミ化法の年代測定への応用が期待される。

第2章において，重水素6置換体の合成に伴い，新たなMαNP acidの合成法を確立した。その合成法を元に，MαNP acidのより簡便な合成法を確立することができた。新合成法は中間体を蒸留により精製することができ，より簡便な合成法であると言える。次に，アミドが結晶化したことから，分別再結晶法による MαNP acid の簡便な光学分割を試みた。L-フェニルアラニノールとの縮合により得られるアミドを直接メタノールより分別再結晶し，第一溶出成分を高収率で分取することができた。分別再結晶法は HPLCによる分離と比較すると，時間効率が高く，また大量分取も可能なことから非常に有効な方法である。また，縮合剤として BOP 試薬より安価な DCC-HOBt を用いた反応条件を確立した。最後に MαNPacid の回収を試みた。アミドについて酸，および塩基による種々の加水分解，加溶媒分解を試みたが，いずれの場合も MαNP acid を回収することはできなかった。そこで，オキサゾリジノンを経由する加溶媒分解を試みたところ，低収率ながらも MαNP acid の回収に成功した。MαNP acid の回収については，今後さらなる検討が必要である。

第4章　新規不斉補助基MαNP acidを用いたキラルな甲状腺ホルモンアナログKAT-2003の絶対配置決定

甲状腺ホルモンアナログは高脂血症，動脈硬化症，脂肪肝もしくは肝炎等の予防又は治療剤として非常に有用性の高い医薬品として期待されており，キッセイ薬品の西村らにより合成されたキラルな甲状腺ホルモンアナログKAT-2003 (+)-**6** もその一つである。しかし，光学活性な (+)-**6** は，その比旋光度は決定されたものの，絶対配置は未決定であった。本研究では，キッセイ薬品との共同研究として， KAT-2003 (+)-**6** の絶対配置を確実に決定することを目的とし研究を行った。

CD 励起子キラリティー法， X 線結晶構造解析を目指した誘導体の合成と結晶化を試みたが，絶対配置を決定することはできなかったので， NMR 磁気異方性効果を用いた絶対配置決定法を試みた。アルコール (±)-**7** と (*S*)-**1** との縮合により得られるエステルは， HPLC により容易に光学分割することができた。また，^{1}H NMR を測定し，$\Delta\delta$ を求めることで，第一溶出成分のアルコール部の絶対配置を *S* と決定した。一方，生理活性エナンチオマー (+)-**6** についても同様にメチル化， MαNP エステルへと誘導したところ，その ^{1}H NMR および HPLC の溶出時間が先の第一溶出成分と一致した。翻って， KAT-2003 の絶対配置を S と決定した。したがって，MαNP acid 法を用い KAT-2003 の絶対配置を確実に (*S*)-(+)-**6** と決定することに成功した (Figure 4)。

第5章　結論

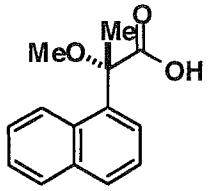
本研究を以下にまとめる。

1. MαNP acid の特徴を活かした新規鏡像体過剰 (% ee) 決定法の開発に成功した。本方法はジアステレオマー誘導法でありながら，その速度論的光学分割因子を完全に除去することに成功し，従来法と比べて，より簡便かつ厳密に鏡像体過剰を決定することができる。
2. MαNP acid 法を天然アミノ酸由来アミノアルコールへ適用し，効率良くジアステレオマー分離できることを見いだした。この結果を受け，アミノアルコールに対する MαNP acid を用いた鏡像対過剰決定

法の利用が示唆され，今後，アミノ酸ラセミ化法による年代測定への展開が期待される。また，アミド **5A** の絶対配置を X 線結晶構造解析により決定し，MαNP acid の絶対配置をさらに確証した。加えて，MαNPacid のより簡便な合成の検討も行った。

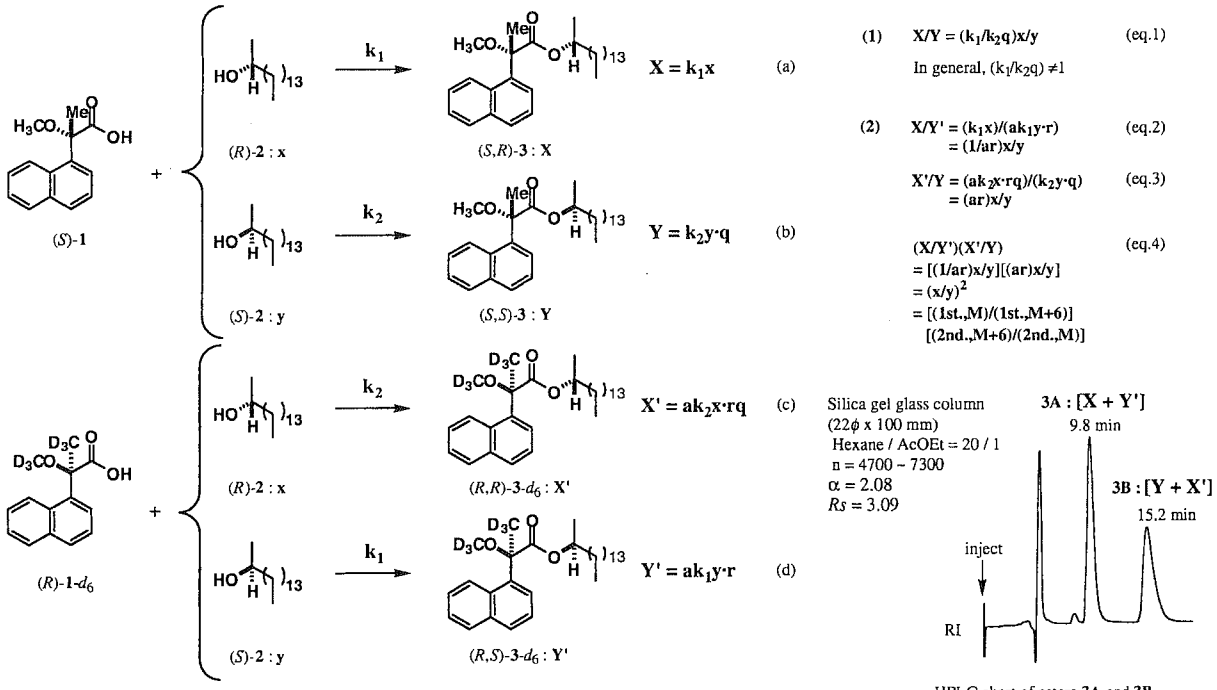
3. キラルな (*S*)-MαNP acid を不斉補助基として用い，キラル甲状腺ホルモンアナログ KAT-2003 (+)-**6** の絶対配置を確実に *S* と決定することに成功した。

Figure 1



(*S*)-(+)-**1**
(MαNP Acid)

Figure 2



(1) $X/Y = (k_1/k_2q)x/y$ (eq.1)
In general, $(k_1/k_2q) \neq 1$

(2) $X/Y' = (k_1x)/(ak_1y \cdot r) = (1/ar)x/y$ (eq.2)

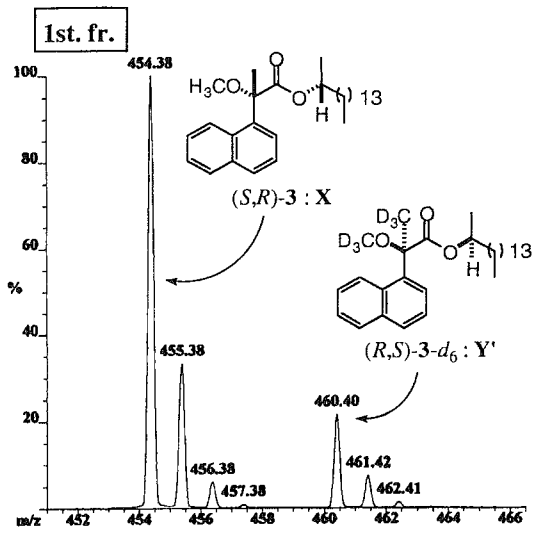
$X'/Y = (ak_2x \cdot rq)/(k_2y \cdot q) = (ar)x/y$ (eq.3)

$(X/Y')(X'/Y) = [(1/ar)x/y][(ar)x/y] = (x/y)^2 = [(1st.,M)/(1st.,M+6)][(2nd.,M+6)/(2nd.,M)]$ (eq.4)

Silica gel glass column
(22ϕ x 100 mm)
Hexane / AcOEt = 20 / 1
n = 4700 ~ 7300
α = 2.08
Rs = 3.09

HPLC chart of esters **3A** and **3B**.

k_1, k_2 ; 速度論的光学分割因子を考えた比例係数
a ; (*R*)-**1**-d_6の存在比、アイソトープ効果等を含む係数
q: ジアステレオマーに対するイオン化効率
r: 重水素化体に対するイオン化効率



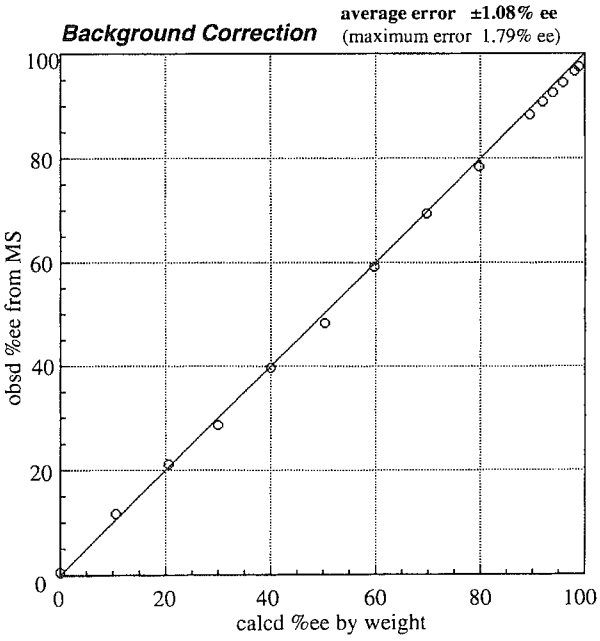
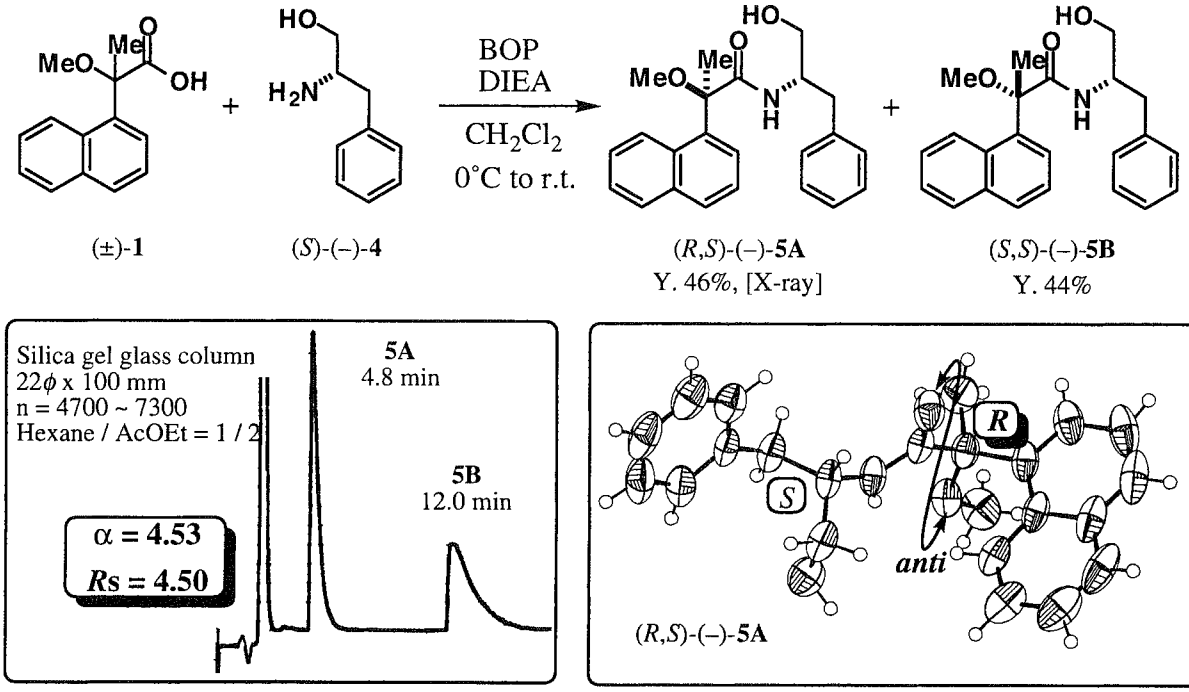


Figure 3



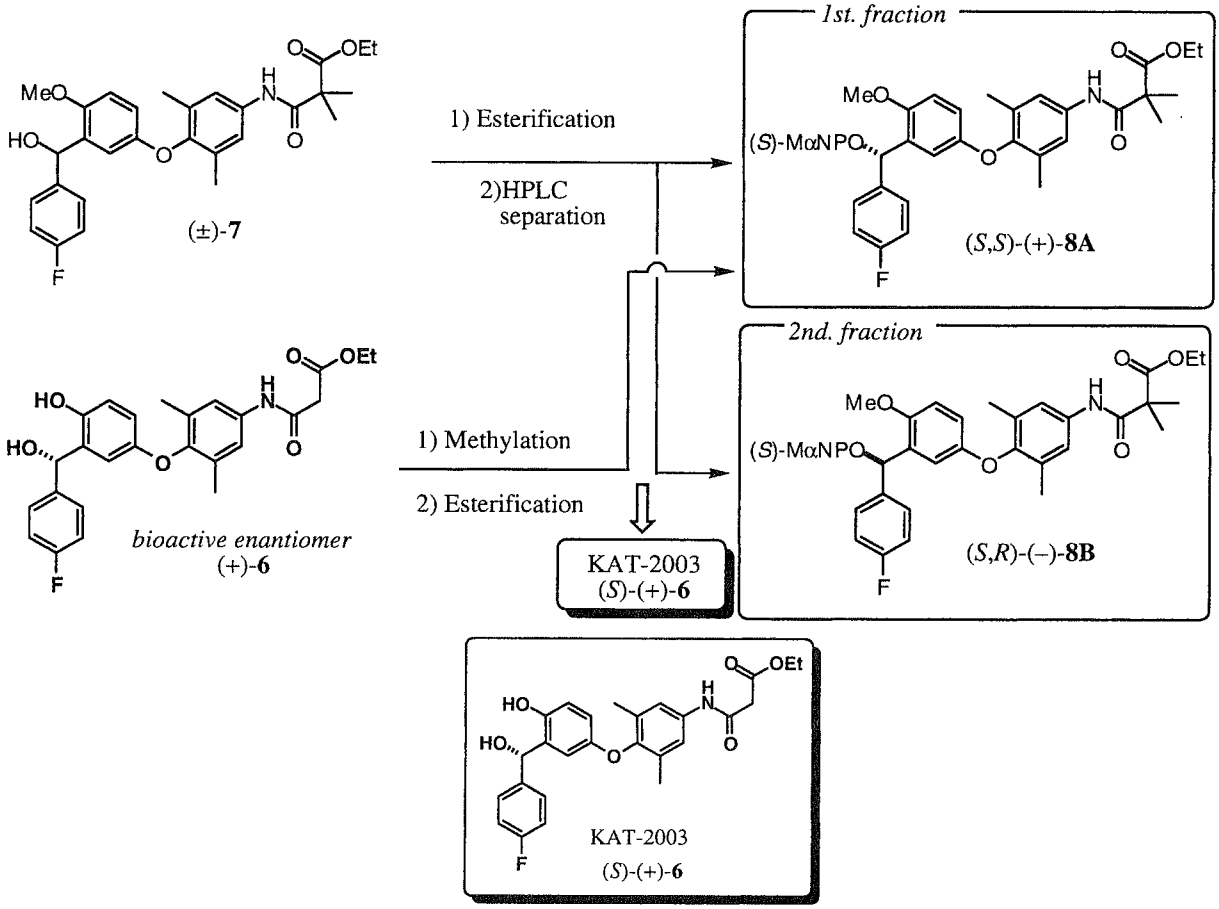


Figure 4

論文審査の結果の要旨

新規不斉補助基 2-メトキシ-2-(1-ナフチル)プロピオン酸 (MαNP acid **1**) は，アルコールに対する大きな不斉識別能，ナフチル基による強力な磁気異方性効果，および不斉中心が 4 級でありラセミ化しないという特徴を持つ。このため，アルコールの光学分割と，NMR 磁気異方性効果による絶対配置決定に非常に強力である。本研究では MαNP acid 法の新展開として，NMR または MS スペクトルを用いた新規鏡像体過剰 (% ee) 決定法の開発，アミノ酸ラセミ化法による年代測定法への適用，およびキラル甲状腺ホルモンアナログKAT-2003 の絶対配置決定に成功した。

不斉合成と酵素反応では，いかにして生成物の絶対配置と % ee の決定を行うかが大きな問題である。本研究では **1** の特徴を活かした MS スペクトルを用いた新規鏡像体過剰決定法の開発に成功した。本方法は，(*S*)-**1** および重水素置換体 (*R*)-**1**-d_6 を用い，種々の % ee に調製したアルコールと同一フラスコ内で反応させ 4 種のジアステレオマーを得た後，HPLC で分離し，得られた第一，第二溶出成分の軽水素体と重水素体の比から % ee 決定する方法である。15個のテストサンプルに適用し，計算値と実験値は良く一致した。本方法はジアステレオマー誘導法でありながら，速度論的光学分割因子を完全に排除し，検量線なしに厳密に % ee を決定できる。

この鏡像体過剰決定法は，年代測定法であるアミノ酸ラセミ化法への応用が可能である。MαNP acid 法を L-フェニルアラニノールへ適用し，効率良くジアステレオマーを分離できた (α = 4.53)。またカルボン酸部の絶対配置をX線結晶解析により決定した。今後，年代測定への展開が期待される。

キッセイ薬品で開発されたキラル甲状腺ホルモンアナログ KAT-2003 は，絶対配置が未決定であった。(*S*)-**1** を用い，ラセミ体 KAT-2003 誘導体の光学分割と絶対配置決定を行った。次いで生理活性 (+)-KAT-2003 を同様に誘導体化し，先の第一溶出成分と NMR および HPLC が一致したことから，その絶対配置を (*S*)-(+) と確実に決定できた。

以上の研究成果は，本人が自立して研究活動を行うに必要な高度の研究能力と学識を有することを示している。よって田地宏美提出の博士論文は，博士（理学）の学位論文として合格と認める。