

令和 3 年 6 月 23 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2019～2020

課題番号：19K22492

研究課題名(和文) 超酵素様触媒作用を指向したペプチド合成触媒の創製

研究課題名(英文) Peptide-Synthesis Using Super-Enzymatic Catalysis

研究代表者

竹本 佳司 (Takemoto, Yoshiji)

京都大学・薬学研究科・教授

研究者番号：20227060

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：我々は、 α -アミノ酸の脱水アミド化反応に効果的なアルケン型gem-ジボロン酸を開発した。この触媒の構造的特徴は2つのフェノールとB-C-B構造を分子内に有することであり、モレキュラーシーブス存在下に攪拌するだけで四環性構造を形成する。この堅牢な環状構造がカルボン酸の活性化とラセミ化の抑制に起因しており、従来のアリールボロン酸とは異なる触媒作用で進行するものと推定している。アミノ酸の窒素置換基としては通常のアミノ酸合成で資料される保護基(Boc, Cbz, Fmoc)やCF₃CO基が使用可能であり、また酸素、窒素、硫黄など様々な官能基が本反応条件下で共存可能であった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

医薬品や機能性材料に含まれる多様なペプチドを合成するため、多くの合成法が確立されているが、副生成物を排出せず、常温常圧下で進行し、ラセミ化を起こさない触媒反応は存在しない。本課題では、従来法とは異なりカルボン酸の分子内配位結合と酸塩基触媒作用が同時に可能となるgem-ジボロン酸を新たに設計することで、触媒活性の大幅な向上と触媒活性種の安定化を達成し超酵素様のペプチド合成触媒の合成に成功した。この研究成果により、触媒量、反応温度、ラセミ化など数多くの課題を解決する糸口に繋がる構造的知見を得ることができ、水しか出ない画期的でクリーンな触媒開発という目標に一步近づくことができた。

研究成果の概要(英文)：Alkane-gem-diboronic acids have emerged as versatile organoboron catalysts for dehydrative amidation of α -amino acids. A phenol-substituted multiboron catalyst with a B-C-B structure outperformed simple arylboronic acids in the condensation of α -amino acids with suppressed epimerization of electrophiles. gem-Diboronic acid catalysis were compatible with various O, N, and S-functionalized α -amino acids bearing N-protecting groups including common carbamates used in peptide synthesis (Boc, Cbz, Fmoc). N-Trifluoroacetyl protection enabled an unprecedented catalytic dehydrative peptide synthesis at room temperature. Preliminary mechanistic studies revealed carboxylate-binding nature of gem-diboronic acids, orthogonal to the activation of carboxylic acids by arylboronic acids. The distinctive reactivity of the gem-diboronic acids would open prospects for mild catalytic peptide condensation.

研究分野：有機合成化学

キーワード：合成化学 ペプチド 触媒反応 ボロン酸 触媒作用

1. 研究開始当初の背景

医薬品や機能性材料に含まれる多様なオリゴペプチドを効率的かつ環境調和的に連結するため、これまで数多くの合成法が開発されてきた。しかし現状では所望の生成物以上の副生成物や廃棄物が生じるため、持続可能な合成法が求められている。すなわち、反応は常温常圧下で進行し、廃棄物を排出せず、生成物のオリゴペプチドをラセミ化させずに合成できる触媒反応は理想的な合成技術となりうる。しかし、従来の触媒は触媒活性が低いために 80 度の加熱が必要であること、またそれに伴いアミノ酸の不斉炭素中心がラセミ化するため生成物の分離精製が困難になるなどの課題が残っていた。

2. 研究の目的

本課題では、従来法とは異なりカルボン酸の分子内配位結合と酸塩基触媒作用が同時に可能となるジボロン酸触媒 (*gem*-ジボロン酸、ベンゼンジ-1,2-ジボロン酸、1,1'-ビフェニルジボロン酸など) を新たに設計することで、触媒活性の大幅な向上と触媒活性種の安定化を達成し、超酵素様のペプチド合成触媒の開発を目指す。この研究を通して、触媒量、反応温度、ラセミ化など数多くの課題を解決する糸口に繋がる構造的知見を収集し、持続可能な開発目標 SDG's を充す水しか出ない画期的でクリーンな触媒反応の開発に取り組む。

3. 研究の方法

アリールボロン酸の触媒活性を飛躍的に向上させる戦略 1 として、従来の触媒設計には無い触媒構造の適切な位置にカルボン酸を導入し「二量体ボロン酸触媒類似構造」を構築できるかどうかを検証する。そのため、アリールボロン酸とアリールカルボン酸をアルキンで連結した触媒の 2 量体錯体を合成し、活性中心であるホウ素原子に配位させるカルボン酸の数と位置による触媒活性の変化を確認する。また、アリールボロン酸の触媒活性を飛躍的に向上させるために、アリールボロン酸とカルボン酸を同一分子内に有する触媒ではなく、同一分子内にボロン酸を二つ有するビスボロン酸触媒を設計し、それらの合成と触媒活性を検証する。

最後に、標準基質を用いたアミド化反応の収率による触媒活性の比較を行い、触媒作用に必須の官能基の探索を行い、触媒構造を最適化してゆく。

4. 研究成果

2-エチルフェニルボロン酸とカルボキシ基を有する 2-ヨードベンゼンを別途合成し、菌頭カップリング反応と保護基の脱離により安息香酸型触媒を、さらに一炭素増炭し嵩高さの異なる $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ や $\text{CMe}_2\text{CO}_2\text{H}$ をオルト位に有する触媒の合成に成功した。さらに、カルボキシ基に代わりにリン酸、アミノ基、チオ尿素を有する触媒も同様の手法により調製した。

また合成した触媒を脱水剤存在下に混合すると、触媒二分子から成るボロン酸とカルボン酸の 2 対 2 錯体がスムーズに形成されることも明らかにした。残念ながら、いずれの触媒も既存のボロン酸を凌駕するほどの高いアミド形成触媒活性を示すものは無かった。

次に上記で合成した同種の二量体錯体は分子内カルボキシ基の配位が強固なためか基質のカルボン酸との配位子交換が遅く、触媒活性が低い可能性があった。そこでカルボキシ基を持たない異種の触媒との組合せを検討し、触媒活性が向上するかどうかを試みた。しかしながら、所望の触媒錯体は形成するものの既存の触媒を超えるアミド化形成触媒を見出すには至らなかった。

そこで令和 2 年度は、アリールボロン酸の触媒活性を飛躍的に向上させるために、前年度に得た研究成果を参考にして、アリールボロン酸とカルボン酸を同一分子内に有する触媒ではなく、

同一分子内にボロン酸を二つもつビスボロン酸触媒を設計し、それらの合成と触媒活性を検証した。すなわち、(戦略1)ビスボロン酸として、同一 sp^3 炭素上に2つのボロン酸が置換した *gem*-ビスボロン酸誘導体と(戦略2)ベンゼン環の1,2-位あるいはビフェニルの1,1'-位に2つのボロン酸が置換した芳香族ビスボロン酸の計3種類の触媒合成を実施した。

その結果、戦略1のビスボロン酸触媒の合成に成功し、種々のカルボン酸とアミンのアミド化反応を促進するある程度の触媒活性を有していることを確認した。特にアミノ酸誘導体同士のペプチド形成においては、従来のアリアルボロン酸の触媒活性を遥かに超える加速効果が観測され、65°C程度に加熱は必要であるが5%molの触媒量で反応は進行した。またアミノ酸の窒素保護基として、ペプチド合成で汎用されるBoc基やFmoc基を使用できるのが本触媒反応の最大の特徴である。さらに脂肪族アミノ酸のみならずセリン、システイン、グルタミン酸、グルタミン、ヒスチジン、プロリンなど種々の官能基を持つアミノ酸を求核剤ないしは求電子剤として利用できることを明らかにした。一方で、従来からの課題であるエピメリ化については、使用するアミノ酸に依存する面もあるが、若干のラセミ化が進行しており、カルボン酸よりもアミン側がラセミ化する傾向にあった。

また詳細な反応機構の解明は現在進行中であるが、この *gem*-ビスボロン酸は5Åモレキュラーシーブ存在下で脱水し、四環性ボロン酸錯体となることを突き止めている。これにより、ホウ素原子のルイス酸性が高まり反応系内に存在するカルボン酸が効率よく配位するようになったと考えられる。またこの四環性錯体はシス構造をとるために、ボロン酸触媒に配位している2つのカルボン酸のうち2つのホウ素に同時に配位できるカルボン酸は1つであり、もう一方のカルボン酸は塩基触媒として機能している可能性がある。このように本触媒は、従来の対称な二量体錯体を形成するアリアルボロン酸とは異なる活性化機構が関与するため、高い触媒活性を発現していると推定している。

さらにVTNA法を用いた速度論解析から、反応速度はカルボン酸に対して約0.3次、アミンと触媒はともに1次であったことから、カルボン酸-触媒2:1錯体へのアミンの付加あるいは水の脱離が律速段階であることが示唆されている。

戦略2の1,1'-ビフェニルビスボロン酸については、無置換誘導体の合成には成功したが、反応溶媒に対する触媒の溶解性に問題があるためか *gem*-ビスボロン酸を超える触媒活性を見出すには至っていない。今後は、2つのベンゼン環の適切な位置に脂溶性官能基を導入する戦略を検討する予定である。さらに最後の *vic*-ビスボロン酸に関しては、2つの合成戦略を現在検討している段階である。まだ合成は完了していないが、今年度より関連する研究課題が基盤研究Aに採択されたので、引き続き検討を継続してゆく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件(うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件)

1. 著者名 Michigami Kenichi, Sakaguchi Tatsuhiko, Takemoto Yoshiji	4. 巻 10
2. 論文標題 Catalytic Dehydrative Peptide Synthesis with gem-Diboronic Acids	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Catalysis	6. 最初と最後の頁 683 ~ 688
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acscatal.9b03894	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている(また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計5件(うち招待講演 0件/うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Kenichi Michigami, Tatsuhiko Sakaguchi, Yoshiji Takemoto
2. 発表標題 gem-Diboronic acid-catalyzed condensation reaction to form a peptide bond
3. 学会等名 第12回有機触媒シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 道上 健一、坂口 達彦、竹本 佳司
2. 発表標題 gem-ジボロン酸を触媒としたペプチド縮合反応の開発
3. 学会等名 第45回 反応と合成の進歩シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenichi Michigami, Tatsuhiko Sakaguchi, Yoshiji Takemoto
2. 発表標題 gem-Diboronic acid-catalyzed dehydrative peptide synthesis
3. 学会等名 The 27th International Society of Heterocyclic Congress (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Kenichi Michigami, Tatsuhiko Sakaguchi, Yoshiji Takemoto
2. 発表標題 Development of gem-diboronic acids as dehydrative peptide synthesis catalysts
3. 学会等名 The 4th International Symposium on Process Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 ○湯村 太一、竹本 佳司
2. 発表標題 アリールボロン酸触媒によるカルボン酸を用いた分子内ヒドロアシル化反応
3. 学会等名 日本薬学会第141年会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

http://orgchem.pharm.kyoto-u.ac.jp/

6. 研究組織		
氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8 . 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------