

令和 5 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K05487

研究課題名（和文）ライブラリ探索と機械学習に基づくペプチド触媒の開発

研究課題名（英文）Development of peptide catalysts based on library screening and machine learning

研究代表者

工藤 一秋（Kudo, Kazuaki）

東京大学・生産技術研究所・教授

研究者番号：80251669

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000円

研究成果の概要（和文）：当初計画した、ペプチド触媒のアミノ酸配列とその触媒反応結果との間に何らかの相関を見出すということに関しては、明確な結論を出すことはできなかった。その一方で、非共有結合的に基質を活性化するN末端グアニジル化強塩基ペプチド不斉触媒を新たに見出し、これを用いた α -ジカルボニル化合物のニトロオレフィンへの高エナンチオ選択的1,4-付加反応に成功した。さらに、基質を2-ニトロビニル基を有する面不斉[2.2]パラシクロファンにしたところ、高効率で速度論的光学分割が進行することも見出すことができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

グアニジンにキラルな置換基を結合させた強塩基性不斉触媒はこれまでに報告例があるものの、決まってグアニジンが2本以上の結合を介して不斉源とつながった形をしていた。今回我々が見出したペプチド触媒は、グアニジンが1本の結合のみで不斉源とつながった構造をもち、このことによってかさ高い基質の反応を触媒できることが示された。また、面不斉化合物の速度論的光学分割では、一般の低分子触媒ではほとんどキラリティーの認識ができないことが判明し、この点でもペプチド触媒という新しいタイプの有機触媒の有用性を示すことができた。

研究成果の概要（英文）：Regarding the proposal to find some kind of correlation between the amino acid sequence of the peptide catalyst and its catalytic reaction result, which was originally planned, it was not possible to draw a clear conclusion.

On the other hand, we could discover a new N-terminal guanidinylated strongly basic peptide asymmetric catalyst that non-covalently activates substrates, and used it to a Michael addition of α -dicarbonyl compounds to nitroolefins with high enantioselectivity. Furthermore, it was found that the kinetic resolution proceeded with high efficiency when planar chiral [2.2]paracyclophane with a 2-nitrovinyl group was used as the substrate.

研究分野：有機合成化学

キーワード：ペプチド触媒 面不斉化合物 グアニジン触媒 不斉触媒反応

1. 研究開始当初の背景

申請者は樹脂固定化選択的ペプチド触媒の開発を進めてきており、それらは、ペプチド N 末端のアミノ基を触媒活性点として、エナミン機構もしくはイミニウムイオン機構で反応を触媒するもので、見出した選択的反応は 20 種類以上に及ぶ。ペプチド触媒の開発において問題になるのが、「どのようにして最適なペプチド配列に到達するか」という点である。これまでは、ペプチド鎖が触媒反応に寄与するためには、二次構造を持つ必要があると考え、ヘリックスあるいはターン-ヘリックス構造をもつものを基軸に開発を進めてきた。この設計で一定の成功をおさめたが、この程度では、ペプチド触媒のもつ大きな可能性をわずかに引き出したに過ぎない。しかしながら、20 種のタンパク質構成アミノ酸に限られない人工ペプチドの配列空間は広大で、何の指針もなく新しい配列を開拓するのは困難である。これに関して我々は最近、ランダムペプチドライブラリのハイスループットスクリーニングによって、二次構造についての先入観なしに新しいペプチド配列群を見出すことに成功し、その結果に基づいて、より高効率のペプチド触媒を見出すことに成功している。高活性をもつペプチド触媒に共通の配列があることが分かったが、それらの三次元構造は依然不明のままであった。当該研究を進める過程で、200 を超える多種のペプチド触媒について、4-ニトロシナムアルデヒドへのマロン酸エステルの不斉マイケル付加という単一の反応に対してアッセイを行っている。そこからペプチド触媒の構造-触媒機能の相関を見出すことができれば、さらなる触媒の最適化や今後のペプチド触媒の分子設計指針の確立が期待できる。しかしながら、ペプチド分子は、特定の形にポリペプチド鎖が折りたたまれているタンパク質とは異なり結晶化し難い上、溶液状態でもしばしば複数のコンホマーの混合物となるため、構造情報が得にくい。この事実が、ペプチド触媒のさらなる発展のための障害になっている。そこで、あえて構造情報を追うのではなく、ペプチドの配列情報から一足飛びにその触媒機能との相関を得ることができれば、この障害を乗り越えられると期待された。

2. 研究の目的

本研究では、これまでに蓄積されたペプチド不斉触媒を用いた反応結果の解析にデータサイエンスを活用することで、構造-機能相関という一般的な方法論とは異なるアプローチでペプチド触媒の最適化や新たなペプチド触媒の分子設計の指針を得ることを目的とした。

3. 研究の方法

以下の方法で研究を進めることとした。

- (1) 4-ニトロシナムアルデヒドへのマロン酸エステルの不斉マイケル付加におけるペプチド触媒の配列と触媒反応の結果についての相関を見出す。
- (2) 前項の知見に基づいて、高機能を示す新しいペプチド触媒を創成する。
- (3) この方法論の一般性を打ち出すために、他のペプチド触媒反応において実験データの取得とその機械学習解析を行う。

4. 研究成果

まず、これまでに 7 ないし 14 残基のペプチド触媒 200 種以上で行ってきた、マロン酸ジメチルの 4-ニトロシナムアルデヒドへの不斉 Michael 付加について、粗生成物の NMR データの再点検を行い、これまでは転化率と目的生成物の ee のみで評価してきた実験結果を、目的生成物および副生成物の NMR 収率として見直して、データの精度を向上させた。次にそれらのデータを評価する目的で、いろいろな角度からペプチドのアミノ酸配列と反応結果(収率と ee)についての相関を調べたが、既存のアミノ酸データベースの記述子のいくつかをそのまま利用しても、意味のある結果は得られなかった。また、不斉分子触媒の構造-機能相関を機械学習で取り扱った報告を参考にすることも計画したが、その方法論では触媒分子の記述子が分子の三次元構造に立脚したものであり、今回対象としている三次元構造不明のペプチド群には適用ができなかった。さらに、生理活性を指標としたペプチドの構造機能相関の論文を参考にしようとしたが、それらは天然のアミノ酸に限定されているために、やはり応用ができず、記述子そのものを作り出すことの必要があるとの結論に至った。

一方で、ペプチド触媒の反応開発という意味では、新たな進展があった。ヘリカルペプチドの N 末端側に種々のジペプチドを連結させ、得られたペプチドの N 末端をグアニジル基に誘導することで、強塩基性を示す新たな不斉有機触媒を開発した。これをニトロオレフィンへの α -ジカルボニル化合物の Michael 付加に用いたところ、反応が高エナンチオ選択的に進行した。この新たな触媒では、ヘリックスペプチド部分を固定して、N 末端側の 2 残基を検討するだけで結果

に大きな変化がもたらされることが分かり、構造機能相関の検討がより簡便に可能になることが期待された。実際に、反応結果とペプチドのN末端二残基の関係を種々のパラメータで解析してみたが、現在までのところ明確な結論は得られていない。

触媒開発の観点からはさらに、新たな発見があった。すなわち、上記のN末端グアニジニル化ヘリックスペプチドを用いたニトロマイケル付加反応を、2-ニトロビニル基を有する面不斉[2.2]パラシクロファンに適用したところ、高効率で速度論的光学分割が起こることが見出された。興味深いことに、平面性の基質と面不斉の基質とで、最適なペプチドの構造がわずかに異なることが分かり、本研究の根幹をなすペプチド触媒の構造機能相関について、一定の知見を得ることができた。

一方で、本研究で中心的な課題とした、ライブラリ探索に基づいた、互いに大きく配列・鎖長の異なるペプチド触媒群を対象とした機械学習による解析は、思うような進展を得ることができなかった。これについては、本年初頭に出現後、驚くべき波及力で社会にインパクトをもたらした生成系AIなどを有効に利用することによって、継続的に検討していく所存である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 6件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Takeuchi Yuta, Akagawa Kengo, Kudo Kazuaki	4. 巻 86
2. 論文標題 Solid-Phase Biomimetic Synthesis of Polyketide	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Organic Chemistry	6. 最初と最後の頁 17307 ~ 17317
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.joc.1c02441	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tamaribuchi Kenya, Tian Jiaqi, Akagawa Kengo, Kudo Kazuaki	4. 巻 364
2. 論文標題 Enantioselective Nitro Michael Addition Catalyzed by N Terminal Guanidynylated Helical Peptide	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Advanced Synthesis & Catalysis	6. 最初と最後の頁 82 ~ 86
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/adsc.202101152	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Takeuchi Yuta, Kawasaki Shun, Akagawa Kengo, Kudo Kazuaki	4. 巻 12
2. 論文標題 Iterative synthesis of nitrogen-containing polyketide <i>via</i> oxime intermediates	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 RSC Advances	6. 最初と最後の頁 5275 ~ 5279
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D2RA00108J	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Jin Yu, Akagawa Kengo, Kudo Kazuaki	4. 巻 84
2. 論文標題 Spontaneous substitution of azulene-derived benzylic alcohols by thiols and its application to labeling/protection of biothiols	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2021.131998	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Jin Yu, Akagawa Kengo, Mutai Toshiki, Yoshikawa Isao, Kudo Kazuaki	4. 巻 84
2. 論文標題 Synthesis, characterization of calix[5]azulene and its complexation with pyridinium salts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tet.2021.132146	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Liu Qian, Yoshikawa Isao, Kudo Kazuaki	4. 巻 264
2. 論文標題 Synthesis of 2-trifluoromethylated 3-pyrrolines/pyrrolidines via [3+2] cycloaddition of azomethine ylides with the participation of 3,3,3-trifluoroalanine	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 J. Fluorine Chem.	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jfluchem.2022.110061	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計9件 (うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件)

1. 発表者名 川崎 駿、赤川 賢吾、工藤 一秋
2. 発表標題 マロン酸ハーフチオエステルを用いた、 α -不飽和チオエステルの効率的合成法の開発
3. 学会等名 日本化学会 第103春季年会(2023)
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 J.Tian, K.Tamaribuchi, K.Akagawa, K.Kudo
2. 発表標題 N-terminal guanidinylated peptide catalyzed asymmetric Nitro Michael addition and its application to kinetic resolution of a planar-chiral [2.2]paracyclophane
3. 学会等名 第11回CSJ化学フェスタ2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Q.Liu, K.Akagawa,K.Kudo
2. 発表標題 Development of regioselective α -alkylation of α,β -unsaturated aldehydes catalyzed by peptides
3. 学会等名 第11回CSJ化学フェスタ2021
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Y.Takeuchi ,S.Kawasaki ,K.Akagawa,K.Kudo
2. 発表標題 Biomimetic Iterative Synthesis of Nitrogen-containing Polyketide via O-Alkyl Oximes Intermediates
3. 学会等名 Pacifichem 2021 (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Jin Yu、赤川 賢吾、工藤 一秋
2. 発表標題 アズレン由来のベンジルアルコールのチオールによる自発的置換とバイオチオールのラベル化/保護への応用
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 竹内 優太、赤川 賢吾、工藤 一秋
2. 発表標題 生合成機構を模倣したポリケチドの収束的合成法の開発
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 川崎 駿、竹内 優太、赤川 賢吾、工藤 一秋
2. 発表標題 生合成機構を模倣した含窒素ポリケチド合成法の開発
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 溜淵 堅也、赤川 賢吾、工藤 一秋
2. 発表標題 ヘリックス構造をもつN末端グアニジル化ペプチド触媒を用いた不斉マイケル付加反応
3. 学会等名 日本化学会 第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 工藤一秋
2. 発表標題 合成ペプチドは酵素の夢を見るか？ 選択的ペプチド触媒の開発
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ2020（招待講演）
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Kazuaki Kudo	4. 発行年 2022年
2. 出版社 John Wiley & Sons, Inc.	5. 総ページ数 912
3. 書名 Catalytic Asymmetric Synthesis, Fourth Edition, Ed. by T. Akiyama and I. Ojima, Chapter 5. ASYMMETRIC PEPTIDE CATALYSIS	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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
---------	---------