

平成 27 年 6 月 15 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25670004

研究課題名(和文) 有機触媒を用いるペプチドの選択的解裂：脱セリン化を伴うペプチド短縮反応

研究課題名(英文) Regioselective Cleavage of Peptides by Organocatalysis

研究代表者

川端 猛夫 (Kawabata, Takeo)

京都大学・化学研究所・教授

研究者番号：50214680

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,900,000円

研究成果の概要(和文)：ペプチドの人工触媒による配列特異的解裂は有機化学分野における長年の挑戦である。ペプチド中のセリン残基のアミドNH基選択的なBoc化を検討する過程で、セリン残基が特異的に除去されるペプチド短縮反応を見いだした。反応機構解明に向けた検討を行い、以下の成果を得た。1) Boc-N-Val-Ala-Ser-Ala-ORのテトラペプチドを用いて触媒を精査し、L-beta-naphthylalanine 側鎖を持つPPY型触媒に特異的なペプチド切断反応であることがわかった。2) 異なる2種類のテトラペプチドを用いるcross over実験から、このペプチド切断-再結合が分子内反応で進行することがわかった。

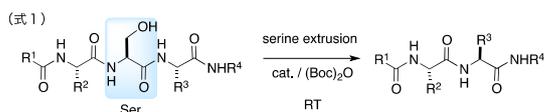
研究成果の概要(英文)：Non-enzymatic peptide cleavage under mild conditions has been a long-standing challenge in organic synthesis. A further challenge is how to achieve site-selectivity in the peptide cleavage. We report here organocatalytic site-selective cleavage of serine-containing peptides at ambient temperature. The salient feature of this reaction is that the peptide cleavage takes place at the both N-, and C-termini of the serine residue, and the remaining peptides at the both side of the serine residue recombine keeping their original sequences. The serine residue is excluded and recovered as an oxazolidone derivative. This splicing-type reaction was observed with high generality and high functional group tolerance.

研究分野：有機合成化学

キーワード：有機触媒 ペプチド 位置選択的切断 アミド結合

## 1. 研究開始当初の背景

我々は有機触媒による4つの遊離水酸基を持つグルコース誘導体の位置選択的アシル化を報告している (JACS, 2007, 129, 12890)。本反応では、グルコースの本来高い反応性を持つ6位1級水酸基ではなく、反応性の逆転と伴って4位第2級水酸基上で選択的に反応が進行する。これは触媒分子が反応性の高い6位1級水酸基と水素結合を形成することで、4位水酸基が反応点(アシルピリジニウムのアシル基)に近接するためと理解している。即ち、基質の第1級水酸基が触媒による基質認識の拠点となっている。この仮説をセリン残基選択的なアミドNH-Boc化に展開することを計画した。グルコース誘導体を基質とする反応では認識される水酸基と反応する水酸基が1,3-ジオールの関係にある。一方、セリン含有ペプチドでは水酸基とセリン残基に由来するアミドNHとは1,2-アミノアルコールの関係にあり、セリン残基に隣接するアミノ酸残基のアミドNHとは1,3-アミノアルコールの関係となる。これらのアミドNHの位置選択的Boc化を行い、引き続きN-Bocイミドの加水分解により、2段階操作によるペプチドの配列特異的切断を行うことを計画した。種々の有機触媒を精査すると、予想に反して、ペプチド中のセリン残基が特異的に除去されるペプチド短縮反応を見いだした(式1)。関連研究として、Zn( )触媒によるセリン選択的ペプチド解裂反応が最近、真島らによって報告されたが、(Mashima, et.al., ACIE, 2012, 57, 5723)、本反応のようなセリン部分が除去されるペプチド短縮反応は全く前例がなく、本反応の全容解明と新たな合成法としての確立を目標として本研究に着手した。



## 2. 研究の目的

ペプチドの人工触媒による配列特異的解裂は有機化学や生化学の分野における長年の挑戦である。ペプチド中のセリンのアミドNH基選択的なアシル化(Boc化)を検討する過程でセリン部分が特異的に除去されるペプチド短縮反応を見いだした。本反応は触媒に依存して起こり、基質の特異的な性質に由来するものではない。本研究ではこの前代未聞の反応を精査し、触媒や反応条件の最適化を行い、さらに反応機構を明らかにすることを目的とする。

## 3. 研究の方法

ペプチドの脱セリン化反応は従来、全く知られていない反応様式を持つため、その最適化と機構解明を中心に行う。本分子変換の鍵を握るのはアミドNH選択的Boc化と想定し

ている。通常の条件下にはセリン残基のO-Boc化が優先するが、本反応ではO-Boc化が進行するとdead endとなる。実際にO-Boc体を本触媒の存在下(Boc)<sub>2</sub>Oと反応させてもO-Boc体の回収に終わる。即ち、触媒制御により如何に本来、O-Boc化に有利な反応性を逆転させてアミドNHのBoc化を進行させるかが鍵となる。これまで行ってきたアミノジオールのアシル化は、DMAP触媒ではより反応性の高い第1級水酸基上で起こるのに対し、本触媒では通常不利な第2級水酸基上で起こる。この反応性の逆転は、水酸基とNHs基間の距離を触媒が精密に認識することで起こると考えており、同様の選択性発現機構をこの脱セリン化反応でも想定している。即ち、触媒による官能基間の距離認識が本触媒作用と密接に関連すると考えられる。そこで本触媒や種々の基質認識官能基側鎖を持つ触媒を用いて、本脱セリン化反応を検討する。また、想定している反応中間体を別途合成し、想定反応機構の妥当性を検証しつつ、反応機構を明らかにしていきたい。

また、前年度に最適化した条件を用いて、脱セリン化の基質一般性とセリン特異性を検証する。また、セリン残基を2つのペプチドについても調べる。

次にセリンの代わりシステインやトレオニン、またヒスチジンなどの水素結合ドナー官能基を持つペプチドを用いて、同様の脱アミノ酸反応が起こるかどうかが検証する。

## 4. 研究成果

(1) Boc-N-Val-Ala-Ser-Ala-OC<sub>8</sub>H<sub>17</sub>の配列を持つテトラペプチドを用いて、本反応を進行させる触媒を精査し、その結果本反応は、L-beta-naphthylalanine側鎖を持つPPY型触媒に特異的なペプチド切断反応で、他の類縁体触媒では進行せず、セリン残基のO-Boc化のみが進行することがわかった。

(2) 異なる配列を持つ2種類のテトラペプチドを用いるCross Over実験から、このペプチド切断-再結合過程が分子内反応であることがわかった。

(3) セリン残基のO-Boc化体を反応系に付しても回収されることから、本化合物が反応中間体でないことがわかった。

(4) 脱離するセリンはオキサゾリドンとして回収される。

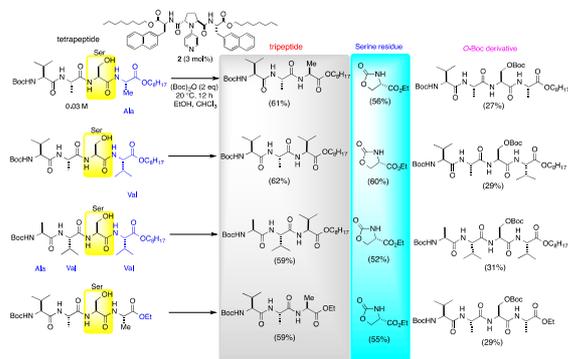
(5) システインやトレオニン、またヒスチジンを含み、セリンを含まないペプチドではペプチド切断は見られない。

(6) セリンを含み、且つ、システインやトレオニン、またヒスチジンを含むペプチドでは、同様の脱セリン化反応が観察された。

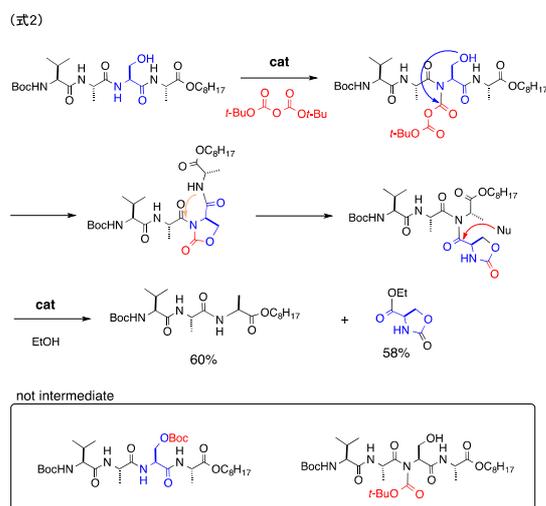
(7) セリン残基を2つ含むテトラペプチドを本条件に付すと、用いる(Boc)<sub>2</sub>Oの当量に依存して、1つ、または2つのセリン残基が脱離する脱セリン化反応が観察された。

(8) 基質としているテトラペプチドのC-末端はオクチルエステルである必要はなく、汎

用されるエチルエステルでも同様のセリン化反応が観察された。



反応機構を式2のように推定した。



## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計4件)

Takeuchi, H.; Mishiro, K.; Ueda, Y.; Fujimori, Y.; Furuta, T.; Kawabata, T.  
Total synthesis of ellagitannins via regioselective sequential functionalization of unprotected glucose, *Angew. Chem. Int. Ed.* 54, 2015, 6177-6180.  
DOI:10.1002/anie.201500700. 査読有.

Yamanaka, M.; Yoshida, U.; Sato, M.; Shigeta, T.; Yoshida, K.; Furuta, T.; Kawabata, T.  
Origin of High E-Selectivity in 4-Pyrrolidinopyridine-Catalyzed Tetrasubstituted,  $\alpha$ -Alkenediol: A Computational and Experimental Study, *J. Org. Chem.*, 80, 2015, 3075-3082.  
DOI:10.1021/jo5029453.  
査読有.

Hamada, S.; Wada, Y.; Sasamori, T.; Tokitoh, N.; Furuta, T.; Kawabata, T.  
Oxidative kinetic resolution of racemic alkyl aryl carbinols by an electronically tuned chiral nitroxyl radical, *Tetrahedron Lett.* 55, 2014, 1943-1945.  
DOI:10.1016/j.tetlet.2014.02.005.  
査読有.  
川端猛夫, アシル化触媒, 月刊ファインケミカル, Vol.63, No. 6, 2014, 14-23.  
査読無.

[学会発表](計3件)

早阪茉奈美、木下智彦、三代憲司、川端猛夫、有機触媒を用いる常温・中性条件下でのペプチドの位置選択的断裂、有機分子触媒による未来型分子変換 第4回公開シンポジウム、2014年6月20日、北海道大学学術交流会館(北海道札幌市)  
早阪茉奈美、木下智彦、三代憲司、川端猛夫、精密分子認識に基づくSer含有ペプチドの位置選択的切断、日本薬学会第134年会、2014年3月28日、熊本大学(熊本県熊本市)  
早阪茉奈美、木下智彦、三代憲司、川端猛夫、有機触媒によるペプチドの位置選択的断裂-脱セリン化反応、第63回日本薬学会近畿支部総会・大会、2013年10月12日、同志社女子大学京田辺キャンパス(京都府京田辺市)

[図書](計0件)

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
ホームページ等

6 . 研究組織

(1)研究代表者

川端 猛夫 (KAWABATA, Takeo)  
京都大学・化学研究所・教授

研究者番号：5 0 2 1 4 6 8 0