

平成 30 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K05495

研究課題名(和文)「遠隔基関与」を利用した有機分子不斉触媒の開発

研究課題名(英文) Development of chiral organocatalyst utilizing "distal group participation"

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) 3,900,000円

研究成果の概要(和文)：申請者らは以前、ある種のペプチドが、特定の付加反応を著しく加速して一方の鏡像異性体のみを優先的に与える触媒作用を示すこと、その理由がペプチド分子内のプロリンとヒスチジンが協同的にはたらくためであることを見出しこれを「遠隔基関与」と名付けていた。今回、遠隔基関与の一般性、応用可能性を明らかにすべく、プロリンとヒスチジンをもついるいるなペプチドを触媒として、いくつかの反応を検討した。その結果、この概念は加水分解反応にも適用できること、ならびに全く新しい配列のペプチドでも同様の現象が起こることを見出すことができ、さらなる展開可能性があることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Before starting this project, we had found that a certain peptide behaves as a catalyst for a specific addition reaction with high activity and high enantioselectivity. We had uncovered that such a catalytic performance of peptide came from cooperative action of proline and histidine in the peptide chain. We tentatively named this phenomenon as "distal group participation". This time we tried to clarify how general this "distal group participation" concept is. We tried several reactions with several peptides, and found that this concept could also be applicable toward hydrolysis reaction. In addition, we could find completely new peptide catalyst having proline and histidine. These findings show that there remains further extendability with the "distal group participation".

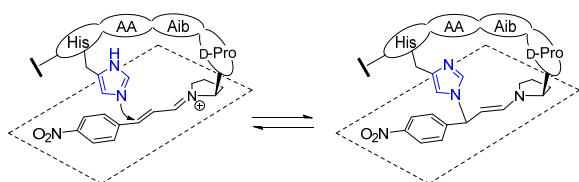
研究分野：有機合成化学・有機機能材料

キーワード：有機分子触媒 不斉触媒 ペプチド ヒスチジン プロリン 加水分解 ライブラリスクリーニング

1. 研究開始当初の背景

申請者らは樹脂固定化ペプチドを触媒に用いた不斉合成を継続的に研究してきており、その一環として樹脂固定化ペプチドライブラリを作製し、これをイミニウムイオン中間体を經由するエナルへのマロン酸エステルの共役付加に対する触媒能についてスクリーニングしたところ、Pro-D-Pro-Aib-Tyr-His-(Leu-Leu-Aib)₂-PEG-PS (**1**, Aib: 2-アミノイソ酪酸, PEG-PS: ポリエチレングリコール-graft-ジビニルベンゼン架橋ポリスチレン) という構造のペプチドが、加速効果と立体選択性発現効果の双方を持ち合わせていることを見出していた。

モデル実験によりその反応機構を調べたところ、単純に反応中間体であるイミニウムイオンの片面をペプチドが覆うというものではなく、ヒスチジン(His)側鎖イミダゾール基のイミニウムへの速い可逆的付加-脱離が関わっていることが強く示唆された(下図。今回これを「遠隔基関与」と名付けた)。



2. 研究の目的

上に述べた「遠隔基関与」という新しい触媒機構の一般性を解明し、もってペプチド以外の有機分子触媒も含んだ触媒設計の新たな指針を築くことを目的とした。

3. 研究の方法

以下の5つのアプローチで研究を行うこととした。

- (1) N末端にProを、遠隔位にHisを持つペプチドで高い触媒能をもつものをさらに探索する。それらについて、求核剤の拡張性を検討する。
- (2) 2次元NMRの測定によってペプチド触媒の三次元構造を解明し、計算化学的手法も取り入れた上で「遠隔基関与」の機構を明らかにする。
- (3) N末端プロリンを他のアミノ酸に換えて、基質がエナルの場合の「遠隔基関与」によるエナンチオ選択性の制御を試みる。
- (4) 第二級アミンとイミダゾールを部分構造をもつ有機分子触媒を設計・合成し、触媒機能を評価することで、遠隔基関

与の一般性を実証する。

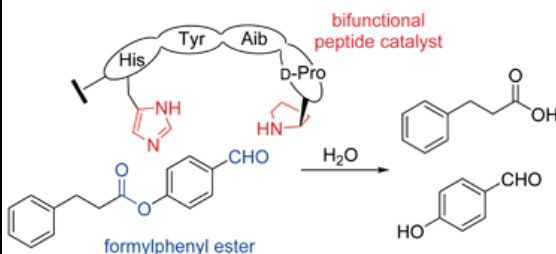
- (5) 遠隔基関与での過渡的なエナミン形成を利用して、エナミンを求核剤とする反応を試みる。付加体をさらに外部からの求核剤と反応させて α,β -二置換アルデヒドの立体選択的に結合形成を試みる。

4. 研究成果

本研究の発端となったHis含有ペプチド触媒のHis側鎖イミダゾールの基質固定化効果に関して、当初有機溶媒中で行っていた反応を水系溶媒に変えたところ、期待したほどの加速効果が出ないことが分かった。これは、水系溶媒中ではそもそも疎水性相互作用によって基質が触媒近傍に集まりやすく、このためHisの寄与が「薄まって」しまうためと推察された。このことから、当初予定した非ペプチド系の含イミダゾール型アミン触媒の開発については実現が困難と判断して、研究の方向性を変更することとした。

Hisは生体内でセリンプロテアーゼの活性中心に含まれ、側鎖のイミダゾールはセリン側鎖ヒドロキシ基あるいは水分子の脱プロトン化による活性化に寄与していることが知られている。そこで、今回のHis含有ペプチドを加水分解触媒として用いることを着想した。

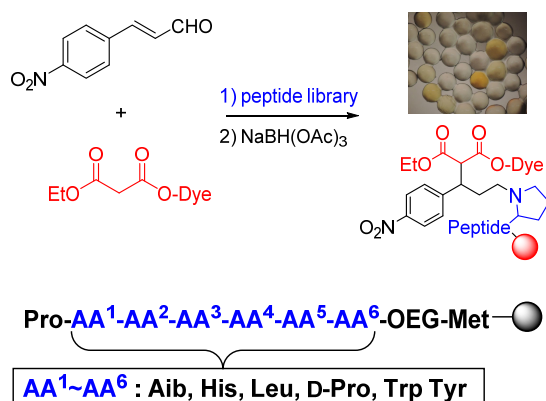
基質として、p-ホルミルフェノールエステルを用い、ホルミル基がペプチドN末端のプロリンによってイミニウムイオンへと活性化され、それによってエステル部分の求電子性が増加、そこにイミダゾールで活性化された水分子が攻撃する、という仮説に基づいて反応を検討したところ、期待通りの加速効果が観察された。ペプチド配列中のHisの場所は重要であり、N末端から5残基目のHisを4残基目に変えると反応の加速効果が著しく減少し、His側鎖がペプチド上の適切な位置にあることの必要性が明らかになった。また、Hisをもたないペプチド触媒と外部から加えたイミダゾールの組み合わせでも目立った加速効果は得られず、イミダゾールがペプチド側鎖に存在することの重要性も確認された(下図)。



続いて、この加水分解反応について、キラルな基質を用いて、ペプチド触媒による速度論的光学分割を試みた。基質の構造やペプチ

ドの配列, 反応条件を種々検討したものの, 残念ながら特筆すべき結果は得られなかった。

一方我々は, 触媒活性をもつ N 末端プロリンヘプタペプチドのライブラリスクリーニングによる探索も行ってきた。このライブラリの構成要素として His を加えることで, 先入観なしに His の協同作用がある触媒を探索した。具体的には末端プロリン以外の 6 箇所に (Aib, His, Leu, D-Pro, Trp, Tyr) のいずれかのアミノ酸をもつペプチドライブラリ (サイズ: $6^6 = 46656$) を作製し, 触媒活性を調べた (下図)。しかしながら, いずれの活性ペプチドも, 他の 5 種のアミノ酸は一定割合で含まれているにも関わらず, His を全く含まないことが分かった。



スクリーニングによりコンセンサス配列が得られたため, その配列の一部を固定してさらにライブラリ探索を行い, さらに人為的なアミノ酸改変なども行った結果, 活性・選択性ともに高い触媒として, His を含む Pro-D-Pro-Leu-D-Pro-Aib-Trp-D-His-Trp に到達した。基質との結合性テストの結果, この触媒には His の協同効果, すなわち遠隔基関与が認められた。

上記で得られたペプチドは二次構造が全く不明であり, 二次元 NMR を測定しても有用な知見を得ることはできなかった。また, 単結晶の取得も試みたものの, 失敗に終わった。そこで, 先入観なしにペプチド配座を多数発生させて構造最適化を行うアプローチでペプチドの高次構造の推定を試みた。得られた最適化構造をもとに, DFT 計算を行うことで立体選択性の説明を行おうとしたが, 実験結果とは一致せず, やはり実験的な構造情報が必要との結論に達した。

遠隔基関与によるイミニウムイオンの反応の展開には限りがあったことから, 過渡的に形成されるエナミンを求核剤とする不斉 Baylis-Hillman 反応を試みた。予備的な実験において Pro-D-Pro-Aib-Tyr-His を含むペプチドでは触媒能が見られなかったが, これは, エナミン中間体が安定すぎるためであり, His を 3-MeHis に換えて遠隔基関与の中間体

をカチオン種とすることで適度な反応性を持たせることができるものと考え, 反応を行ったところ, 有意に反応を加速することが分かった。そこで, これまでに見出された含 His ペプチド触媒の His 部分を 3-MeHis に置き換えたものを種々調整し, これを分子間 Baylis-Hillman 反応に適用した。その結果, 一定の加速効果が見られたものの, 立体選択性については期待したような結果が得られなかった。これは, 立体選択性の発現が中間体への求電子剤の接近の方向とその向きに依存しており, その制御が困難なためと考えられた。

結論として, 遠隔基関与にはある程度の一般性があることが分かった。しかし, ペプチドの立体構造が不明など, 全体像の解明にはさらなる検討が必要である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 9 件)

- 1) K. Akagawa, K. Kudo, Biomimetic iterative method for polyketide synthesis, *Chem. Commun.* **53**, 8645-8648 (2017). DOI: 10.1039/C7CC04033D
- 2) K. Akagawa, K. Kudo, Development of Selective Peptide Catalysts with Secondary Structural Frameworks, *Acc. Chem. Res.*, **50**, 2429-2439 (2017). DOI: 10.1021/acs.accounts.7b00211
- 3) K. Akagawa, J. Satou, K. Kudo, Exploration of Structural Frameworks for Reactive and Enantioselective Peptide Catalysts by Library Screenings, *J. Org. Chem.*, **61**, 9396-9401 (2016). DOI: 10.1021/acs.joc.6b01591 (査読有)
- 4) K. Akagawa, Y. Iwasaki, K. Kudo, Peptide-Catalyzed Library Screening in Aqueous Media to Develop a Highly Active Peptide Catalyst for Enantioselective Michael Addition of a Malonate, *Eur. J. Org. Chem.*, 4460-4464 (2016). DOI: 10.1002/ejoc.201600828 (査読有)
- 5) A. Ueda, T. Umeno, M. Doi, K. Akagawa, K. Kudo, M. Tanaka, Helical-Peptide-Catalyzed Enantioselective Michael Addition Reactions and Their Mechanistic Insights, *J. Org. Chem.*, **61**, 6343-6356 (2016). DOI: 10.1021/acs.joc.6b00982 (査読有)
- 6) K. Akagawa, K. Kudo, Solvolysis of formylphenyl esters by a bifunctional peptide catalyst, *Chem. Lett.* **45**, 300-302 (2016). DOI: 10.1246/cl.151154 (査読有)
- 7) K. Akagawa, T. Hirata, K. Kudo, Asymmetric Epoxidation of Enones by Peptide-Based Catalyst: A Strategy Inverting Juliá-Colonna

Stereoselectivity, *Synlett*, 1217-1222. (2016). DOI: 10.1055/s-0035-1560597 (査読有)

8) K. Akagawa, N. Nishi, I. Yoshikawa, K. Kudo, Kinetic Resolution of a Planar-Chiral [2.2]Paracyclophane Derivative by Helical-Peptide-Catalyzed Michael Addition of Nitromethane, *Eur. J. Org. Chem.*, 5055-5059 (2015). DOI: 10.1002/ejoc.201500594 (査読有)

9) K. Akagawa, M. Akiyama, K. Kudo, Peptide-Catalyzed Desymmetrization of an Achiral Ferrocenyl Compound To Induce Planar Chirality, *Eur. J. Org. Chem.*, 3894-3898 (2015). DOI: 10.1002/ejoc.201500428 (査読有)

〔学会発表〕(計 12 件)

1) 樋口淳一, 赤川賢吾, 工藤一秋, 固相担持ペプチド触媒を用いた面不斉[n]パラシクロファンの速度論的光学分割, 日本化学会第 98 春季年会 (2018)

2) 竹内優太, 赤川賢吾, 工藤一秋, 生合成機構を模倣したポリケチドの固相合成法の開発, 日本化学会第 98 春季年会 (2018)

3) Y.Tian, Z.Du, K.Akagawa, K. Kudo, Development of Tandem Enantioselective Intramolecular Rauhut Currier Reaction and Aldol Condensation Promoted by Peptide Catalyst, 日本化学会第 98 春季年会 (2018)

4) 工藤一秋, 塗料・塗装最近の話題, 第 7 回 CSJ 化学フェスタ (2017)

5) 工藤一秋, ライブラリ法による新規ペプチド触媒の探索, 第 65 回高分子討論会 (2016)

6) K.Akagawa, K. Kudo, Development of efficient peptide catalysts by a facile library screening method, THE 39th NAITO CONFERENCE (2015)

7) K. Kudo, K.Akagawa, M.Akiyama, N.Nishi, Kinetic resolution of planar-chiral compounds catalyzed by resin-bound peptides, THE 39th NAITO CONFERENCE (2015).

8) 工藤一秋, 第一級アミン型ペプチド不斉触媒の開発, 第 64 回高分子討論会 (2015)

9) K.Akagawa, J.Satou, K. Kudo, Screening of peptide libraries for discovering efficient aminocatalysts, International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (2015)

10) K. Kudo, K.Akagawa Development of selective peptide catalysts having secondary structures, International Chemical Congress of Pacific Basin Societies 2015 (2015)

11) 杜肇南, 赤川賢吾, 工藤一秋, Asymmetric Intramolecular Morita-

Baylis-Hillman Reaction Promoted by Peptide Catalysts with Multiple Functional Groups, 第 5 回 CSJ 化学フェスタ (2015)

12) 佐藤潤一, 赤川賢吾, 工藤一秋 大規模ライブラリスクリーニングによる新規ペプチド触媒の開発, 第 5 回 CSJ 化学フェスタ (2015)

〔図書〕(計 3 件)

1) 工藤一秋, 赤川賢吾 他, シーエムシー, 有機分子触媒の開発と工業利用, 2018, pp.193-201.

2) 工藤一秋 他, 化学同人, 有機分子触媒の化学 モノづくりのパラダイムシフト, 2016, pp.185-194.

3) 工藤一秋, 渡辺正, 化学同人, 化学はじめの一步シリーズ 4 有機化学", 2016, 204.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.iis.u-tokyo.ac.jp/~kkudo/publication.html>

6. 研究組織

(1) 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: 8 0 2 5 1 6 6 9

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし

(4) 研究協力者

赤川 賢吾 (AKAGAWA, Kengo)
佐藤 潤一 (SATOU, Junichi)
樋口 淳一 (HIGUCHI, Junichi)