

令和 3 年 6 月 17 日現在

機関番号：16101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05108

研究課題名(和文) 酵素類似酸素添加反応の高度なエナンチオ制御を実現するフラボペプチド触媒の開発

研究課題名(英文) Development of flavopeptide catalysts for enzyme-like asymmetric aerobic oxygenations

研究代表者

荒川 幸弘 (ARAKAWA, Yukihiro)

徳島大学・大学院社会産業理工学研究部(理工学域)・助教

研究者番号：70709203

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、フラボペプチド(フラビン酵素の活性中心と触媒機能を模倣して研究代表者が開発した酸化触媒の総称)の不斉触媒化(エナンチオ選択性の発現)を目的として実施した。酸素添加反応における高度なエナンチオ制御の実現には至らなかったが、(1)フラボペプチド触媒による均一系酸素添加反応、(2)酸素酸化Baeyer-Villiger反応におけるフラボペプチド触媒の酵素類似位置選択性、(3)フラボペプチドの触媒活性における立体化学の影響、(4)フラボペプチドを光レドックス触媒とするアルデヒドの α -オキシアミノ化反応など、今後の不斉フラボペプチド触媒設計の指針となる成果が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の成果は、今後、酸素添加反応に限らず、光レドックス触媒反応を含む幅広い反応系において、フラボペプチドによる高度なエナンチオ制御を実現するための指針となるものであり、それらは従来の重金属塩酸化剤の使用に依存しない安全で環境にやさしい理想的な酸化的分子変換技術の発展、延いては持続可能な開発目標(SDGs)に貢献する重要な課題である。

研究成果の概要(英文)：This study has been carried out for the purpose of developing flavopeptides that catalyze flavoenzyme-like aerobic oxygenations in a highly enantioselective manner. Although the asymmetric induction has not been achieved, we have obtained some important results that will guide the development of chiral flavopeptide catalysts in the future, which include 1) flavopeptide-catalyzed aerobic oxygenations in a homogeneous system, 2) enzyme-like regioselective behavior of a flavopeptide catalyst in aerobic Baeyer-Villiger reaction, 3) effect of stereochemistry on the catalytic activity of flavopeptides, and 4) photoinduced α -oxyamination of aldehydes using flavopeptides as a photoredox catalyst.

研究分野：有機合成化学

キーワード：フラビン ペプチド 酸化反応 不斉触媒反応

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

私たち哺乳類の肝臓にはフラビンモノオキシゲナーゼ(FMO)と呼ばれる酵素が存在する。FMOは、肝臓において、酸素分子(O_2)を活用して有害な物質を無毒化、あるいは体外に排出しやすい物質に変える、いわゆる酸化反応を引き起こす触媒として機能している。FMOの活性中心はフラビン分子(FI)と呼ばれる複素環有機化合物であり、その特異な酸化還元特性を利用して O_2 を末端酸化剤とする基質(Sub)への酸素添加反応(酸化反応の一種)を効率良く進行させている(図1)。酸素添加反応はモノづくりの化学においても有用な分子変換の一つであるが、生産性に優れる人工的な手法の多くには、一般に毒性の高い金属塩の当量あるいは過剰量の使用と廃棄、又これらの生成物への混入が避けられない等の問題がある。一方、FMOは金属を用いずに生体内の温和な環境でこれを実現し、しかも副生成物は水(H_2O)のみである。

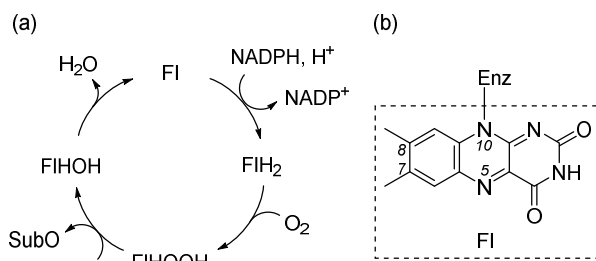


図1. (a)フラビンモノオキシゲナーゼによる酸素添加反応, (b)活性中心のフラビン分子

したがって、FMOの触媒機能のシミュレーションは、安全で環境にやさしい理想的な酸化反応の開発、延いては持続可能な開発目標(SDGs)に貢献する重要な課題である。しかしながら、FIの4a-ヒドロペルオキシ体(FIHOOH, 図1a)は本質的にFIと過酸化水素(H_2O_2)に分解しやすく、これを何らかの因子(FMOでは周辺酵素)によって適度に安定化しなければ酸素添加反応に対する触媒活性は発現しない。そのため、FMOのシミュレートには従来、フラビニウム塩と呼ばれるFIの類似体を用いられた¹⁾。フラビニウム塩は、対応するヒドロペルオキシ活性種が比較的安定なため酸素添加反応の触媒として機能するが、FIに比べて入手や取扱いが困難である。また、FIとは似て非なるものであり、学術的にもFMOの本質に迫るには限界がある。

このような背景のもと、研究代表者は2017年、非酵素条件下においてFIを触媒とするFMO類似の酸素添加反応を世界で初めて実現することに成功した²⁾。具体的には、FIHOOHが分子内水素結合形成によって安定化され得るペプチド含有フラビン分子(フラボペプチド)を計算化学の手法を用いて理論設計し、スルフィドの酸素酸化反応およびケトンの酸素酸化 Baeyer-Villiger 反応に触媒活性を示す FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH-PS を開発した(図2)。しかしながら、FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH-PSには従来の常識を覆す酸素添加機能はあったものの、触媒反応にペプチド鎖のキラリティーは関与せず、酸化生成物はいずれも光学不活性ならセミ体であった。

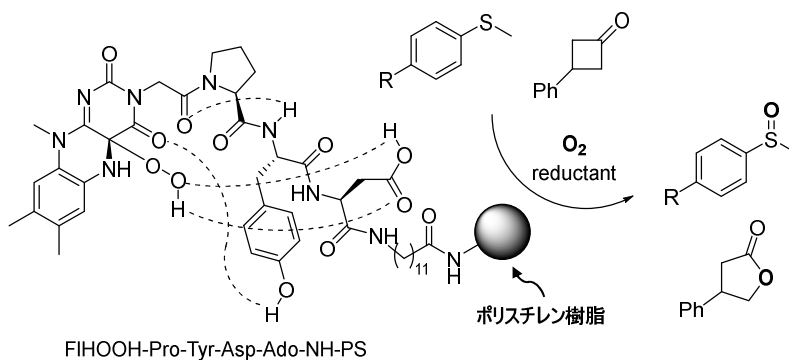


図2. 樹脂担持フラボペプチド触媒による酸素添加反応

2. 研究の目的

本研究は、フラボペプチドを不斉触媒とする高エナンチオ選択的酸素添加反応の実現を最終的な研究目的として立案ならびに実施された。

3. 研究の方法

本研究課題では、上記の目的達成に向けた方法として、まず可溶性フラボペプチドを触媒とする均一系酸素添加反応の条件を確立し、次いでこの条件を基に新規フラボペプチド触媒による高立体選択的不斉酸素添加反応へと展開することを計画した。なお、前者を立案した理由は、上述の研究代表者自らの先行研究²⁾では疎水性樹脂担体を反応場とする不均一触媒系が活性発現の鍵であった事実に対して、同等の触媒活性を均一系で実現できれば触媒の立体配座や基質との相互作用を分光学的に観測・理解しやすくなり、これが後者を達成するために不可欠であろうと考えたためである。具体的には、可溶性フラボペプチド FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH₂ を合成し、これを触媒とする均一系でのスルフィドの酸素酸化反応と酸素酸化 Baeyer-Villiger 反応について活性発現の鍵となる還元剤を中心に適切な条件を見出すこと、さらに活性種の安定化と立体制御の両機能を備えた新規フラボペプチド、特に π - π スタッキングによる立体制御を想定した7,8位無置換FIを含有するFI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH₂及び幅広い基質への適用を想定したFI環N10位に第二のペプチド鎖を有する各種フラボビスペプチドを設計することを構想し、研究を開始し

た。

4. 研究成果

(1) フラボペプチド触媒による均一系酸素添加反応

固相合成法により可溶性のフラボペプチドである FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH₂ を新規合成し、これが均一系でのチオアニソール(1)の酸素添加反応において触媒機能を発現するための反応条件を明らかにした(図3)。特に、還元剤として2-フェニルベンゾチアゾリン(2)、反応溶媒として2,2,2-トリフルオロエタノール(3)を用いる条

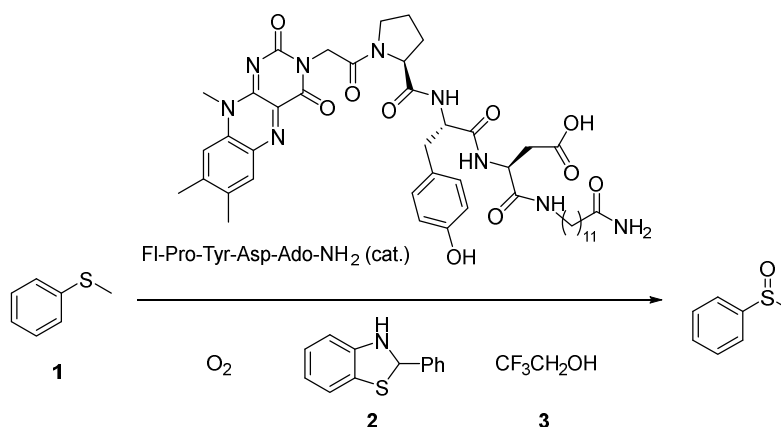


図3. フラボペプチド触媒による均一系酸素添加反応

件において、従来型の FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH-PS に匹敵する触媒活性を示すことがわかった。途中、ロット毎の FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH₂ の触媒活性が必ずしも一致しない問題が生じたが、ソックスレー抽出器を用いる洗浄により合成終盤に混入するトリフルオロ酢酸を確実に取り除くことで、フラボペプチドに由来する活性のみを再現できることを明らかにした。

(2) 酸素酸化 Baeyer-Villiger 反応におけるフラボペプチド触媒の酵素類似位置選択性³⁾

オレフィン含有二環式ケトンのビスクロ[3,2,0]ヘプト-2-エン-6-オン(4)の酸素酸化 Baeyer-Villiger 反応において、FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH-PS が高い触媒活性とともに、FMO さながらの化学選択性ならびに位置選択性を示すことが明らかとなった(図4)。具体的には、オレフィン部位への酸素添加によってエポキシドが生じることなく(化学選択性)、速度論的に有利なラクトン5と不利なラクトン6を同等の比率で与えた(位置選択性)。この結果から、FIHOOH を活性種とする FMO 同様の酸化機構が強く支持された。

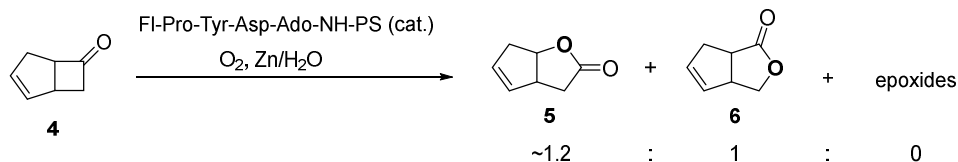


図4. フラボペプチド触媒による4のBaeyer-Villiger酸化反応

(3) フラボペプチドの触媒活性における立体化学の影響⁴⁾

従来型の FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH-PS に加え、そのジアステレオマーである FI-D-Pro-D-Tyr-Asp-Ado-NH-PS、FI-Pro-D-Tyr-Asp-Ado-NH-PS、および FI-D-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH-PS の不斉合成において、ラセミ化が起こっていないことを実験的に明らかにした(図5)。また、それらの酸素酸化触媒活性と立体化学の相関を実験と計算化学の双方から評価し、FIHOOH を安定化するための分子内水素結合における Asp 残基の重要性を明らかにした。

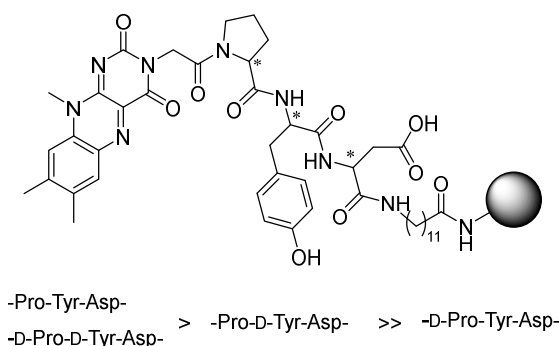


図 5. フラボペプチド触媒の各種ジアステレオマーと酸化触媒活性相関

(4) フラボペプチドを光レドックス触媒とするアルデヒドの α -オキシアミノ化反応⁵⁾

2,2,6,6-テトラメチルピペリジン 1-オキシル (TEMPO) を反応剤とするアルデヒドの光誘起 α -オキシアミノ化において、M10 位置換型フラボペプチド Bn-Ahx-Pro-NH-10-FIEt が優れた光レドックス/エナミン二重触媒活性とともに最大 0.80 の反応量子収率 (Φ) を示すことを明らかにした (図 6)。この知見を基に、単純な FI と光学活性第二級アミンを併用する反応系において、アルデヒドの α -オキシアミノ化体を最大 97% ee のエナンチオマー過剰率で得ることに成功した。

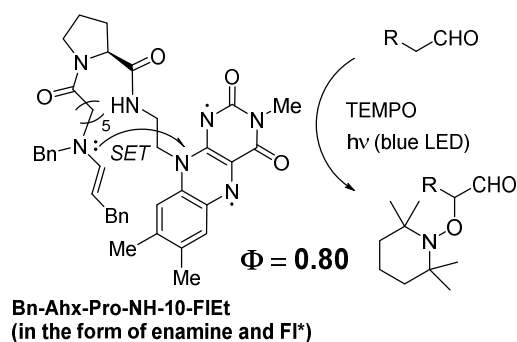


図 6. フラボペプチドの光レドックス/エナミン二重触媒作用によるアルデヒドの α -オキシアミノ化反応

(5) まとめ

本研究では、著者が独自に開発を進めるフラボペプチドの不斉触媒化を目的として研究を開始した。しかしながら、当初の計画通り均一系反応に適した還元剤を見出すには至ったものの、適用範囲の拡大および一般性の評価において、ロット毎の FI-Pro-Tyr-Asp-Ado-NH₂ の触媒活性が必ずしも一致せず、この問題が触媒の純度に起因することが判明したため、触媒合成条件を再検討する必要が生じた【研究成果 (1)】。問題解決には想定外の時間を要したものの、結果的にはこの過程を経て高純度かつ活性再現性の高いフラボペプチド触媒の最適合成条件が確立し、さらに酸素酸化 Baeyer-Villiger 反応におけるフラボペプチドの酵素類似位置選択性を見出した【研究成果 (2)】³⁾。さらに、フラボペプチドにおける活性種安定化に対する深い洞察を得るため、フラボペプチドの各種ジアステレオマーを不斉合成し、触媒の立体化学が触媒活性に及ぼす影響を実験と計算化学の双方の観点から解明することができた【研究成果 (3)】⁴⁾。現状では酸素添加反応における高度なエナンチオ制御の実現には至っていないが、これらの知見は今後の不斉フラボペプチド触媒設計の指針となるものである。一方、酸素添加反応とは異なるが、光レドックス反応系におけるフラボペプチド触媒の新たな可能性を見出した【研究成果 (4)】⁵⁾。

<引用文献>

- H. Iida, Y. Imada, S.-I. Murahashi, *Org. Biomol. Chem.*, **15**, 7599–7613 (2015).
 Y. Arakawa, K. Yamanomoto, H. Kita, K. Minagawa, M. Tanaka, N. Haraguchi, S. Itsuno, Y. Imada, *Chem. Sci.*, **8**, 5468–5475 (2017).
 K. Yamanomoto, H. Kita, Y. Arakawa, K. Minagawa, Y. Imada, *Chimia*, **72**, 866–869 (2018).

Y. Arakawa, N. Takechi, K. Yamanomoto, K. Minagawa, Y. Imada, *Tetrahedron Lett.*, **73**, 153107 (2021).

T. Tagami, Y. Arakawa, K. Minagawa, Y. Imada, *Org. Lett.*, **21**, 6978–6982 (2019).

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 8件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Takuma Tagami, Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada	4. 巻 21
2. 論文標題 Efficient Use of Photons in Photoredox/Enamine Dual Catalysis with a Peptide-Bridged Flavin-Amine Hybrid	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Organic Letters	6. 最初と最後の頁 6978 ~ 6982
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acs.orglett.9b02567	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 -

1. 著者名 Yukihiro Arakawa, Fumiaki Sato, Kenta Ariki, Keiji Minagawa, Yasushi Imada	4. 巻 61
2. 論文標題 Preparation of flavin-containing mesoporous network polymers and their catalysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 151710 ~ 151710
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2020.151710	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 -

1. 著者名 Ken Yamanomoto, Hazuki Kita, Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada	4. 巻 72
2. 論文標題 Enzyme-like Regiodivergent Behavior of a Flavopeptide Catalyst in Aerobic Baeyer-Villiger Oxidation	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 CHIMIA	6. 最初と最後の頁 866-869
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2533/chimia.2018.866	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 -

1. 著者名 Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada	4. 巻 50
2. 論文標題 Advanced Flavin Catalysts Elaborated with Polymers	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Polymer Journal	6. 最初と最後の頁 941-949
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41428-018-0089-8	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 -

1. 著者名 Yukihiro Arakawa, Shun Ueta, Takuma Okamoto, Keiji Minagawa, Yasushi Imada	4. 巻 31
2. 論文標題 Nucleophilic Addition to Nitrones Using a Flow Microreactor	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Synlett	6. 最初と最後の頁 866-870
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1055/s-0039-1691601	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 -

1. 著者名 Yukihiro Arakawa, Tomohiro Mihara, Hiroki Fujii, Keiji Minagawa, Yasushi Imada	4. 巻 56
2. 論文標題 An Uncommon Use of Irradiated Flavins: Bronsted Acid Catalysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Chemical Communications	6. 最初と最後の頁 5661-5664
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1039/D0CC01960G	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 -

1. 著者名 Yukihiro Arakawa, Takayuki Kawahara, Keiji Minagawa, Yasushi Imada	4. 巻 -
2. 論文標題 Alloxazinium-Resins as Readily Available and Reusable Oxidation Catalysts	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Bulletin of the Chemical Society of Japan	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) 10.1246/bcsj.20210096	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 -

1. 著者名 Yukihiro Arakawa, Nao Takechi, Ken Yamanomoto, Keiji Minagawa, Yasushi Imada	4. 巻 73
2. 論文標題 Effect of Stereochemistry on the Catalytic Activity of Flavopeptides	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Tetrahedron Letters	6. 最初と最後の頁 153107
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.tetlet.2021.153107	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16件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 7件）

1. 発表者名 Yukihiro Arakawa
2. 発表標題 Flavin-Peptide-Polymer Hybrid as a Biomimetic Oxidation Catalyst
3. 学会等名 International Congress on Pure & Applied Chemistry (ICPAC) Yangon 2019 (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada
2. 発表標題 Flavin-Peptide-Polymer Hybrid as a Biomimetic Oxidation Catalyst
3. 学会等名 The 1st International Symposium on Hybrid Catalysis for Enabling Molecular Synthesis on Demand (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 荒川幸弘, 南川慶二, 今田泰嗣
2. 発表標題 Flavohybrids That Enable Efficient Use of Biomimetic Catalytic Species
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 武知奈穂, 荒川幸弘, 南川慶二, 今田泰嗣
2. 発表標題 フラボペプチド触媒における立体化学の触媒活性への影響
3. 学会等名 2019年日本化学会中国四国支部大会徳島大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 武知奈穂, 荒川幸弘, 南川慶二, 今田泰嗣
2. 発表標題 樹脂担持フラボペプチド触媒における立体化学の触媒活性への影響
3. 学会等名 第34回中国四国地区高分子若手研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takuma Tagami, Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada
2. 発表標題 Efficient Use of Photons in Photoredox/Enamine Dual Catalysis with a Flavin-Amine Hybrid
3. 学会等名 5th International Symposium on Middle Molecular Strategy (ISMMS-5) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 上田祐, 喜多葉月, 山野本健, 荒川幸弘, 南川慶二, 今田泰嗣
2. 発表標題 均一系フラボペプチド触媒による酵素類似酸素酸化反応
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山野本健, 喜多葉月, 荒川幸弘, 南川慶二, 今田泰嗣
2. 発表標題 N5-Unmodified flavins that catalyze enzyme-like oxidations
3. 学会等名 日本化学会第99春季年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ken Yamamoto, Hazuki Kita, Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada
2. 発表標題 Design of Peptide-Containing N5-Unmodified Neutral Flavins That Catalyze Aerobic Oxygenations
3. 学会等名 The 12th SPSJ International Polymer Conference (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Ken Yamamoto, Hazuki Kita, Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada
2. 発表標題 Neutral Flavin-Catalyzed Oxidations with Hydrogen Peroxide
3. 学会等名 The 14th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Hazuki Kita, Ken Yamamoto, Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada
2. 発表標題 Development of Aerobic Oxygenation Catalyzed by N5-Unmodified Neutral Flavins
3. 学会等名 The 14th International Kyoto Conference on New Aspects of Organic Chemistry (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 荒川幸弘
2. 発表標題 Resin-Supported Flavopeptides That Catalyze Aerobic Oxygenations
3. 学会等名 第67回高分子学会年次大会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 三好正敏, 荒川幸弘, 南川慶二, 今田泰嗣
2. 発表標題 1,2-ビス(アルキルアミド)シクロヘキサンのゲル化を利用した含フラビン物理ゲルの物性評価
3. 学会等名 第35回中国四国地区高分子若手研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 坂東新之助, 荒川幸弘, 南川慶二, 今田泰嗣
2. 発表標題 空酸化 樹脂担持法による新規フラビニウム塩の合成
3. 学会等名 第35回中国四国地区高分子若手研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Naoki Hasegawa, Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada
2. 発表標題 Nucleophilic Addition of Vinyl Ethers to a Flavinium Salt
3. 学会等名 6th International Forum on Advanced Technologies (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Kazuaki Nishitani, Yukihiro Arakawa, Keiji Minagawa, Yasushi Imada
2. 発表標題 Photoinduced Asymmetric α -Oxyamination of Aldehydes Using a Flavin Catalyst and Blue LED Irradiation
3. 学会等名 the LED General Forum 2021
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
研究 分担 者	今田 泰嗣 (IMADA Yasushi) (60183191)	徳島大学・大学院社会産業理工学研究部(理工学域)・教授 (16101)	

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