

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 2 年 7 月 15 日現在

機関番号：32723

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2019

課題番号：18K14401

研究課題名(和文) 試薬/触媒充填型連続フロー法に基づく生合成模倣的アミノ酸合成

研究課題名(英文) Biomimetic synthesis of amino acid using continuous flow reactor packed with reagents/catalysts

研究代表者

増井 悠 (Masui, Hisashi)

横浜薬科大学・薬学部・講師

研究者番号：70714377

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、生物の仕組みを模倣して二酸化炭素からアミノ酸を合成することを目的とする。すなわち、チアミンを触媒として二酸化炭素とアルデヒドから α -ケトカルボン酸を合成(炭酸固定)したのち、 α -ケトカルボン酸をアミノ酸に変換(アミノ基転移)する。われわれは炭酸固定において、アルデヒドとチアミンの複合体をあらかじめ調製しておき、複合体とイソシアナートの連結を検討した。その結果、トリエチルアミン-アセトニトリルの組み合わせで反応させた際に十分な収率で α -ケトカルボキサミドが得られることを見出した。この条件を用いると二酸化炭素を用いた場合にも反応が進行し、目的とする α -ケトカルボン酸が得られた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

二酸化炭素は温室効果ガスの一つであり、多くの場合、地球温暖化の要因の一つと考えられている。しかしながら、二酸化炭素は生物にとって無害な炭素資源であり、これを有効に活用できれば社会的に有意義な技術となる。われわれは生物の代謝の仕組みを利用して二酸化炭素をアミノ酸に変換することを目指した。理論上、アセチルCoAは二酸化炭素と反応してケトカルボン酸になり、これはさらなる変換を受けてアミノ酸になるはずである。われわれはアセチルCoAの代わりにアルデヒド、二酸化炭素の代わりにイソシアナートを用いて、この仮説が正しいことを証明した。同様の手法を用いて、二酸化炭素をケトカルボン酸に変換する技術を開発した。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study is to synthesize amino acids from carbon dioxide biomimetically. α -Ketocarboxylic acid is synthesized from carbon dioxide and aldehyde (carbon fixation) using thiamine analogues as a catalyst, and then α -ketocarboxylic acid is converted to an amino acid (transamination).

In carbon fixation, we prepared a complex of aldehyde and thiamine analogues preliminary and examined the addition of this complex to isocyanate. As a result, it was found that α -ketocarboxamide was obtained sufficiently when the reaction was carried out with a combination of triethylamine-acetonitrile. Using this condition, the reaction proceeded even when carbon dioxide was used, and the target α -ketocarboxylic acid was obtained.

研究分野：生物有機化学

キーワード：気液反応 生物有機化学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

二酸化炭素は温室効果ガスの一つであり、多くの場合、地球温暖化の要因の一つと考えられている。しかしながら、二酸化炭素は生物にとって無害な炭素資源であり、これを有効に活用できれば社会的に有意義な技術となる。とりわけアミノ酸をはじめとする生体分子への変換が可能となればきわめて有用な手法になると期待される。二酸化炭素を炭素源とした化学反応については古くから多数報告がなされている¹⁾。近年では光合成を模倣した二酸化炭素の固定反応等、生合成模倣的な戦略が多数報告されており^{1b)}、アミン類と二酸化炭素の反応によるアミノ酸の合成も報告されている²⁾。しかしながら、この手法では一級アミンのアミノ酸(典型アミノ酸のうちプロリン以外はすべて一級アミン)への変換には適応できない、あるいは事前に修飾された基質を使用しなければならないといった問題点があり、汎用的なアミノ酸合成法が求められているのが現状である。

Reference 1) a) Reactions of carbon dioxide with carbon-carbon bond formation catalyzed by transition-metal complexes, P. Braunstein, D. Matt, D. Nobel, *Chem. Rev.* **1988**, 88, 747-764; b) Toward ideal carbon dioxide functionalization, Y. Yang, J.-W. Lee, *Chem. Sci.* **2019**, 10, 3905-3926; c) A strained disilane-promoted carboxylation of organic halides with CO₂ under transition-metal-free conditions, T. Mita, K. Suga, K. Sato, Y. Sato, *Org. Lett.* **2015**, 17, 5276-5279; d) Regioselective copper-catalyzed carboxylation of allylboronates with carbon dioxide, H. A. Duong, P. B. Huleatt, Q.-W. Tan, E. L. Shuying, *Org. Lett.* **2013**, 15, 4034-4037; e) Direct carboxylation of allylic halides with carbon dioxide in the presence of indium, B. Miaoa, S. Ma, *Chem. Commun.* **2014**, 50, 3285-3287; 2) a) T. Ju, Q. Fu, J.-H. Ye, Z. Zhang, L.-L. Liao, S.-S. Yan, X.-Y. Tian, S.-P. Luo, J. Li and D.-G. Yu, *Angew. Chem., Int. Ed.* **2018**, 57, 13897; b) Synthesis of arylglycine and mandelic acid derivatives through carboxylations of α -amido and α -acetoxy stannanes with carbon dioxide, T. Mita, M. Sugawara, H. Hasegawa, Y. Sato, *J. Org. Chem.* **2012**, 77, 2159-2168.

2. 研究の目的

本研究では、試薬/触媒充填型連続フロー反応を活用し、二酸化炭素を原料とした生合成模倣アミノ酸合成法の確立を目的とする。タンパク質の機能を制御する化合物の開発は医薬品の探索において重要である。生物は主に20種類のアミノ酸(典型アミノ酸)を用いて多様なタンパク質を生み出すが、人工的にタンパク質と相互作用する分子を設計する際には、典型アミノ酸に固執せずにタンパク質の三次元構造に適したアミノ酸を選択する必要がある。しかしながら、特殊な構造のアミノ酸は自然界からの入手が困難であるため、多種多様なアミノ酸を簡単に合成する手法の開発が求められる。

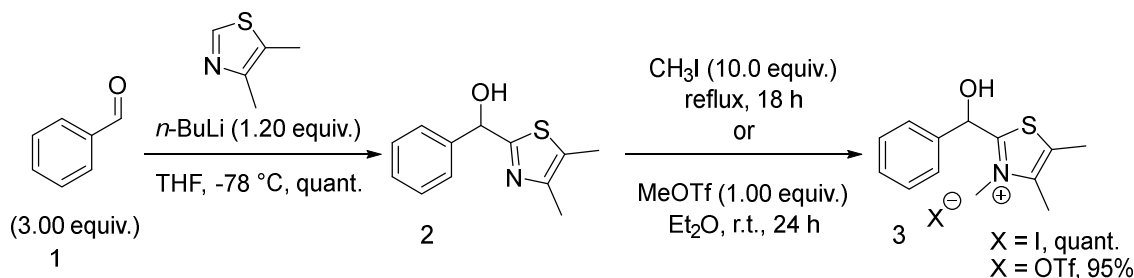
生物は主に α -ケトカルボン酸に対するアミノ基転移によってアミノ酸を合成する。したがって、アミノ基転移および α -ケトカルボン酸の代謝を模倣できれば、汎用性の高いアミノ酸合成手法になり得る。炭水化物、タンパク質、脂質といった栄養素はすべて α -ケトカルボン酸に分解されたのち、脱炭酸をともなってアシル CoA に変換される。この反応は理論上平衡反応であり、すなわち、アシル CoA と二酸化炭素から α -ケトカルボン酸への変換および α -ケトカルボン酸からアミノ酸への変換は実現可能であると考えられる。本研究では、化学的にアシル CoA と等価なアルデヒドと二酸化炭素から α -ケトカルボン酸を合成したのち(炭酸固定反応)、アミノ基転移によってアミノ酸に変換することとした。はじめに、各反応をモジュールとして捉え、「炭酸固定モジュール」と「アミノ基転移モジュール」を開発する。続いて、炭酸固定反応とアミノ基転移反応をフロー反応器で連続的に行い、二酸化炭素およびアルデヒドを流通させるだけで簡単にアミノ酸が得られる生産性の良いシステムの構築を目指す。

3. 研究の方法

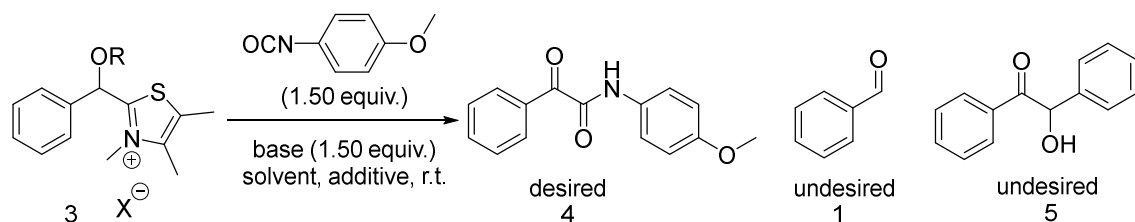
はじめにアルデヒドとしてベンズアルデヒドを用い、ビタミン B1 (チアミン類縁体) 計6種類を用いて、バッチで炭酸固定反応の反応条件を最適化する。主に反応温度と二酸化炭素の圧力を検討する。二酸化炭素は常温常圧下では気体であるため他の試薬と十分に混和するかどうか問題となりうるが、7.38MPa 以上の圧力下では比較的低温(約 31.1 °C)で超臨界状態となり、他の試薬とよく混和すると期待している。最適化された反応条件を用い、様々なアルデヒド(10種類)を基質としてバッチで炭酸固定反応を検討する。良好な結果を与えるチアミン誘導体を固相上に固定化する。すなわち、チアミン上の置換基を足がかりにして、シリカゲル、またはポリスチレン樹脂上に化学結合を介して担持する。固定化したチアミンを用いたバッチでの炭酸固定反応により α -ケトカルボン酸(10種類)を合成する。

4. 研究成果

本研究の鍵となる炭酸固定反応において、計画通りチアミンを触媒として用いたアルデヒドと二酸化炭素の連結反応を検討したものの反応は十分に進行しなかった。これは二酸化炭素の反応性がきわめて低いことに起因すると考えており、さらなる反応の検討を計画した。まずはアルデヒドとチアミンの複合体をあらかじめ調製した(下図)。すなわち、ベンズアルデヒドに対してチアゾール類縁体を付加させ、アルコール 2 を合成した。化合物 2 を N メチル化し二種類の複合体を調製した。



調製した複合体に対して、二酸化炭素の代わりにイソシアナートを用いて、塩基としてトリエチルアミン、炭酸ナトリウム、ジアザビシクロウンデセン等 7 種類、溶媒としてアセトニトリル、テトラヒドロフラン等 4 種類、添加剤としてスカンジウムトリフラート、塩化カルシウム、炭酸銀等 7 種類を組み合わせることで反応条件を検討した。その結果、トリエチルアミン-アセトニトリルの組み合わせで反応させた際に十分な収率で α -ケトカルボン酸類縁体を得られることを見出した(下図)。



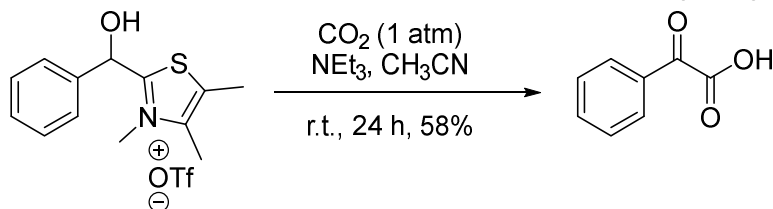
Entry	R	X	Base	Solvent	Additive	Result
1	TES	I	CsF	DMF	-	n.d.
2	TES	I	CsF	CH ₃ CN	-	n.d.
3	H	OTf	DBU	CH ₂ Cl ₂	-	n.d.
4	H	OTf	DBU	THF	-	compound 1, 5
5	H	OTf	DBU	DMF	-	compound 3
6	H	OTf	DBU	CH ₃ CN	-	compound 1, 5
7	H	OTf	Et ₃ N	CH ₂ Cl ₂	-	n.d.
8	H	OTf	Et ₃ N	THF	-	n.d.
9	H	OTf	Et ₃ N	DMF	-	n.d.
10	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	-	desired 4 45%
11	H	OTf	4-methylmorpholine	CH ₂ Cl ₂	-	n.d.
12	H	OTf	4-methylmorpholine	THF	-	n.d.
13	H	OTf	4-methylmorpholine	DMF	-	n.d.
14	H	OTf	4-methylmorpholine	CH ₃ CN	-	n.d.
15	H	OTf	pyridine	CH ₂ Cl ₂	-	n.d.
16	H	OTf	pyridine	THF	-	n.d.
19	H	OTf	pyridine	DMF	-	n.d.
20	H	OTf	pyridine	CH ₃ CN	-	n.d.
19	H	OTf	DIEA	CH ₂ Cl ₂	-	compound 3
20	H	OTf	DIEA	THF	-	compound 3
21	H	OTf	DIEA	DMF	-	compound 1, 5
22	H	OTf	DIEA	CH ₃ CN	-	compound 1, 5
23	H	OTf	Na ₂ CO ₃	CH ₂ Cl ₂	-	n.d.
24	H	OTf	Na ₂ CO ₃	THF	-	n.d.
25	H	OTf	Na ₂ CO ₃	DMF	-	n.d.

26	H	OTf	Na ₂ CO ₃	CH ₃ CN	-	n.d.
*27	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	-	desired 4 19%
**28	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	-	desired 4 78%
29	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	Ti(Oi-Pr) ₄	n.d.
30	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	CaCl ₂	n.d.
31	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	Sc(OTf) ₃	n.d.
32	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	Al(Oi-Pr) ₃	desired 4 23%
33	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	Zn(OTf) ₂	n.d.
34	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	BF ₃ OEt ₂	compound 1, 5
35	H	OTf	Et ₃ N	CH ₃ CN	Ag ₂ CO ₃	n.d.

* isocyanate(3.00 equiv.) was added

** Et₃N was added to substrate and isocyanate in CH₃CN

最適化した反応条件を用いると、求電子剤として二酸化炭素を用いた場合にも中程度ながら反応が進行し、目的とする α -ケトカルボン酸が得られた。なお、チアミンの代わりにシアン化物イオンを用いた際にも α -ケトカルボン酸が得られることを確認した(下図)。



フロー法への適応に向けて、現在さらなる検討を実施している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 増井悠, 石澤夏美, 新津さくら, 本田瑛樹, 庄司満, 高橋孝志
2. 発表標題 一酸化炭素や二酸化炭素を試薬としたアミノ酸類縁体合成法の開発
3. 学会等名 有機合成セミナー
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 増井悠, 新津さくら, 本田瑛樹, 庄司満, 高橋孝志
2. 発表標題 ヒドロホルミル化反応のフローへの適応と合成への応用
3. 学会等名 日本薬学会第139年会
4. 発表年 2019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