

# 学位論文内容要旨

北里大学薬学部医薬品化学教室

氏名：腰塚 正佳

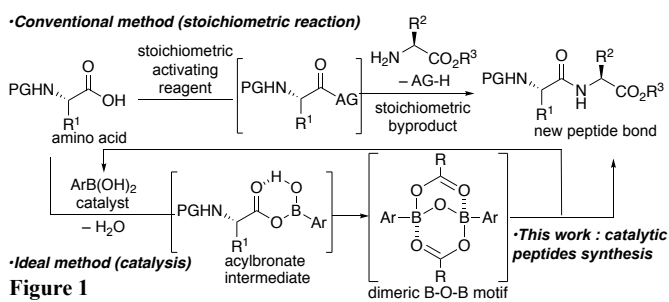
題目

「新規ジボロン酸無水物触媒の開発を基盤とした基質支配型ペプチド結合形成反応」

## 1. 緒言

ペプチドは、医薬品開発<sup>1)</sup>や生体材料開発<sup>2)</sup>、触媒開発<sup>3)</sup>をはじめ多くの分野において有用な化合物であることから、その効率的な合成手法の開発は重要な研究課題である。従来、ペプチドの合成法としては縮合剤を用いた脱水縮合反応<sup>4)</sup>が汎用されてきた。しかしながら、本手法では化学両論量の縮合剤を必要とし反応後には縮合剤由来の副生成物が化学両論量副生する。こうした欠点を補う新たな手法として、近年触媒による脱水縮合反応を用いたペプチド合成反応が求められている。単純カルボン酸のアミド化反応においては、山本ら<sup>5)</sup>によって報告された電子不足ボロン酸を用いた触媒反応を契機として、これまでに様々な改良型芳香族ボロン酸触媒が開発されてきた<sup>6)</sup>。通常、ボロン酸触媒アミド化反応ではアシルボロナートが活性中間体として想定されてきたが、近年 Whiting ら<sup>7)</sup>によって、B-O-B 骨格を有する多環性反応中間体を経る新たな反応機構が提唱された。しかしながら、アミノ酸の保護基として有用なカルバマート系保護基を有するアミノ酸を基質としたペプチド合成に芳香族ボロン酸触媒を適用することは困難であり、触媒的ペプチド合成を実現した報告例は未だに限定的である (Figure 1)。これまでに触媒的ペプチド結合形成反応において実績のある触媒としては、Sheppard ら<sup>8)</sup>によるトリフルオロエタノール由来のボラートエステル、柴崎、熊谷ら<sup>9)</sup>によって開発された DATB 骨格を有するルイス酸触媒、最近報告された竹本ら<sup>10)</sup>による、B-C-B 骨格を有する gem-DBA 触媒に限られているのが現状となっている (Figure 2)。

こうした背景のもと我々は独自に、分子内に B-O-B 結合を有するジボロン酸無水物を触媒とし、ヒドロキシカルボン酸を用いた触媒的アミド化反応を設計した。具体的には、ジボロン酸無水物の一方のホウ素原子との共有結合形成、続くカルボキシル基の活性化により高活性な多環性アシルボロナート中間体が生成することで効率的に脱水縮合が進行することを期待した。以上の作業仮説のもと、今回筆者は基質支配に基づく触媒的ペプチド合成法の開発を目指し、研究に着手した (Figure 3)。



Borate or Multiboron-Catalyzed Peptide Bond Formation

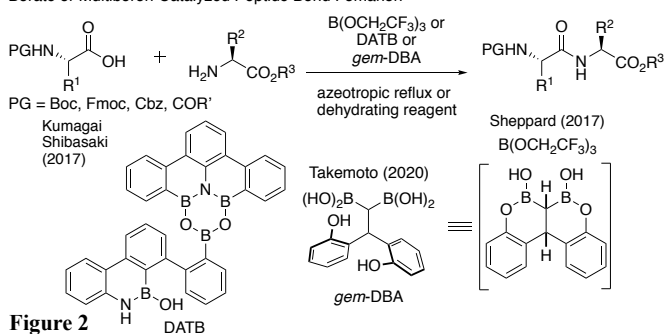


Figure 2

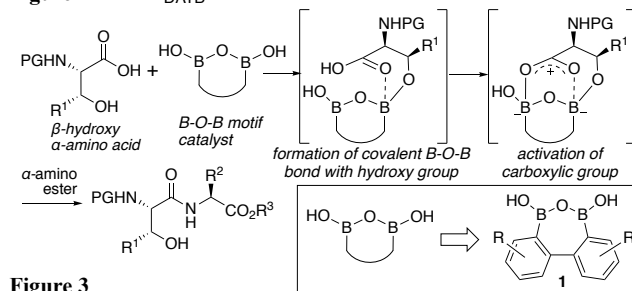


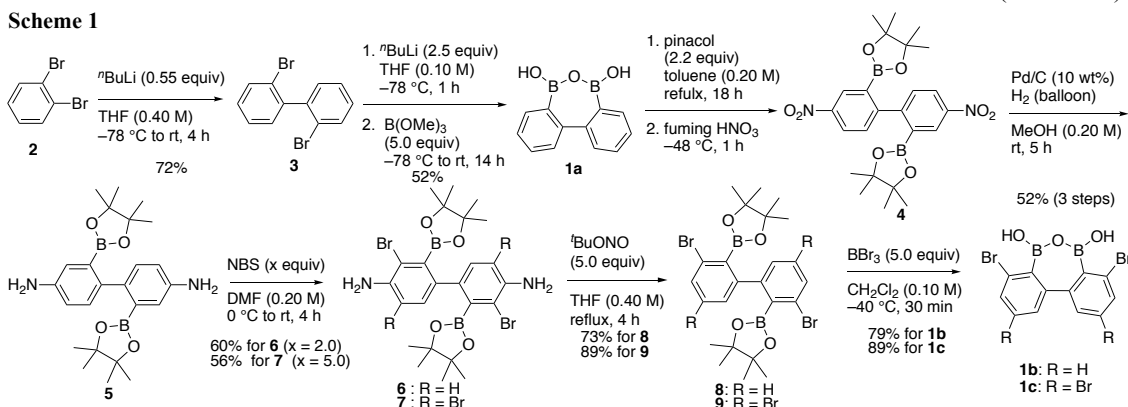
Figure 3

## 2. 新規ジボロン酸無水物触媒の開発<sup>11, 12)</sup>

### 2-1. 新規ジボロン酸無水物触媒の合成

触媒候補分子として、多様な誘導体合成を視野に入れビフェニル構造を基本骨格とする分子を選定した。1,2-ジブロモベンゼン(**2**)を出発原料としてジブロモビフェニル(**3**)を72%の収率で得た。続くハロゲン-リチウム交換反応を経たホウ素導入によって2工程収率52%の収率でジボロン酸無水物**1a**を合成した。**1a**<sup>13)</sup>のホウ素原子をピナコール保護したのち、発煙硝酸によるニトロ化を行い、接触還元によってアニリン**5**を3工程収率52%で合成した。次にアニリン**5**を足がかりとして臭素原子を導入することとした。臭素原子の位置選択性は使用するNBSの等量を制御することによって、両ホウ素原子のオルト位のみ、またはオルト位のみならずパラ位にも導入した**6**、**7**をそれぞれ60%、56%の収率にて得た。臭素化したボロン酸エステル**6**および**7**は、それぞれザンドマイヤー反応によってアミン部位を水素化したのち、低温下にてジクロロメタン中、三臭化ホウ素に付すことにより目的とするジボロン酸無水物**1b**および**1c**を得ることができた(Scheme 1)。

Scheme 1



### 2-2. 触媒活性評価

ペプチド結合形成反応の開発に先立ち、 $\beta$ -ヒドロキシカルボン酸のアミド化反応をベンチマークとして触媒活性評価を行った(Scheme 2)。はじめに、1.0 mol%のジボロン酸無水物**1a**存在下、3-ヒドロキシ-3-フェニルプロパン酸(**10a**)と当量の*N*-ベンジルメチルアミン(**11a**)とのアミド化反応について検討を行った。その結果、トルエン加熱条件下、対応する $\beta$ -ヒドロシアミド**12a**が70%の良好な収率で得られた。また、**1b**、**1c**を用いた場合に触媒活性の向上が観測され、特に**1c**を用いた場合に1.0 mol%の場合ではほぼ定量的に、わずか0.2 mol%の触媒量においても98%の高収率でアミド**12a**が得られることを見出した。

### 2-3. 推定反応経路

反応経路の推定を目的として、反応中間体の検出を試みた(Figure 4)。ジボロン酸無水物**1a**、 $\beta$ -ヒドロキシカルボン酸**10a**およびアミン**11b**を含む混合溶液の質量分析を行ったところ、アシルボロナート**I**に相当する分子イオンピークが観測された。また<sup>11</sup>B NMRの測定結果より5.5 ppmにピークが観測され、反応系中において4配位ホウ素中間体の存在が示唆された。

Scheme 2

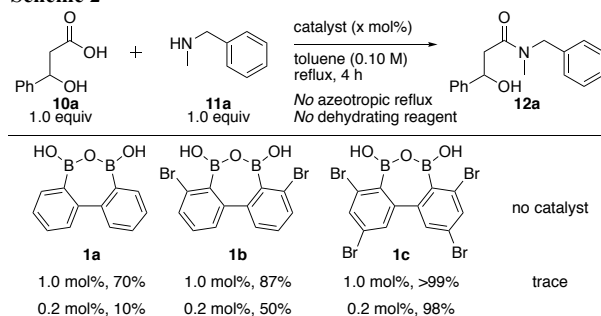
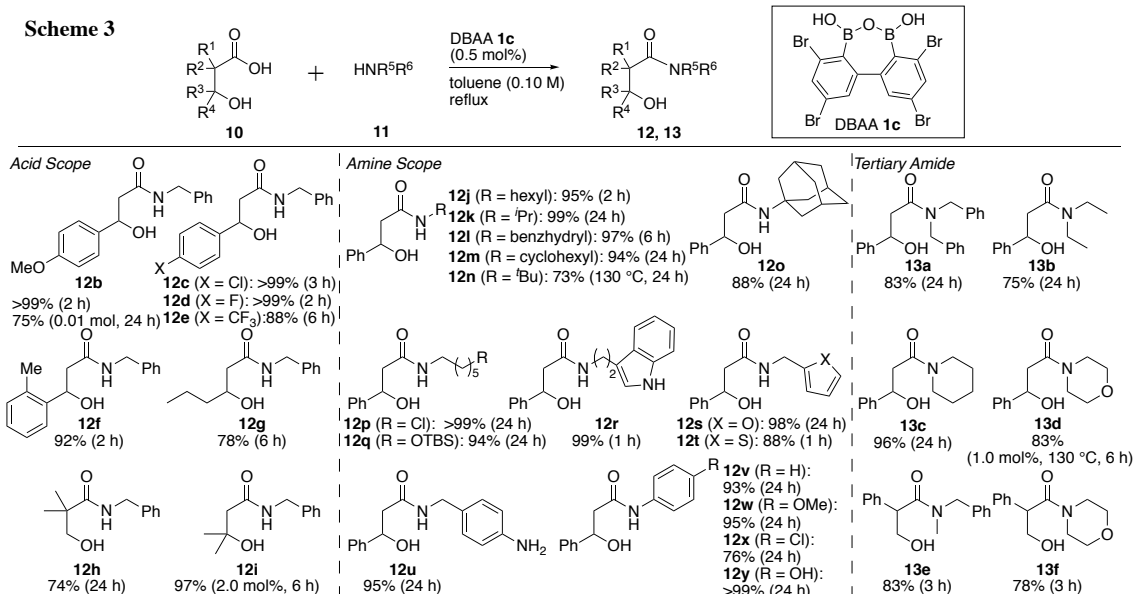


Figure 4



### 3. $\beta$ -ヒドロキシカルボン酸の触媒的アミド化反応の開発<sup>11, 12)</sup>

#### 3-1. $\beta$ -ヒドロキシアミドの触媒的合成



前述の検討結果より DBAA **1c** の高いアミド化触媒活性が明らかとなったので、 $\beta$ -ヒドロキシカルボン酸のアミド化における基質適用範囲の拡充に向けて検討を行った(Scheme 3)。はじめにカルボン酸基質の検討を行ったところ、 $\beta$ 位ベンゼン環上の置換基によらず 88%から 99%以上の高い収率で対応するアミドが得られることが明らかとなった(**12b–12f**)。特に **12b** の実施例では触媒量を 0.01 mol% をした場合においても良好な 75% の収率で得られ、触媒的アミド化反応としては文献史上最高の触媒回転数 7,500 を記録した。また  $\beta$ 位に脂肪族側鎖を有するカルボン酸や嵩高い  $\alpha, \alpha$  もしくは  $\beta, \beta$  二置換のカルボン酸基質を用いた場合にも対応するアミド **12g–12i** が満足いく収率で得られた。続いてアミン基質について検討を行った。その結果、単純な脂肪族アミンのみならず嵩高いアダマンチル基を有するアミン基質を用いた場合においても、73%から 99% の高収率でアミドが得られた(**12j–12o**)。また、本反応は高い官能基許容性を示し、アルキルハライドやシリルエーテル、芳香族複素環であるインドール環やフラン環やチオフェン環、芳香族アミンを有するアミン基質も適用可能であることが明らかとなった(**12p–12y**)。さらに、本触媒反応は三級アミド合成にも適用可能であった(**13a–13f**)。なお、本触媒反応は *N*-メトキシ-*N*-メチルアミンを用いた触媒的 Weinreb アミド合成にも適用可能である<sup>14)</sup>。

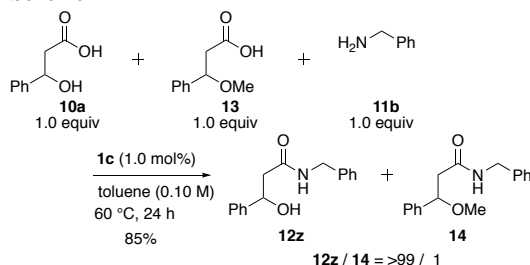
#### 3-2. 化学選択的触媒的アミド合成

ヒドロキシカルボン酸と単純カルボン酸との競争実験を行なった結果、極めて高い 99 : 1 以上の化学選択性にてヒドロキシアミド **12z** が優先して得られることが明らかとなった。以上の結果は、DBAA 触媒が基質支配に基づいた触媒的アミド化反応に極めて有効であることを示している。

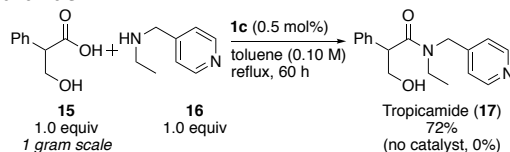
#### 3-3. 医薬品合成への応用

DBAA 触媒アミド化反応の応用研究の一環として、散瞳薬として利用されるトロピカミド(**17**)の合成を行った (Scheme 5)。検討の結果、わずか 0.5 mol% の **1c** を用いるのみで、トロピカミド(**17**)のグラムスケール合成を達成することができた。

**Scheme 4**



**Scheme 5**

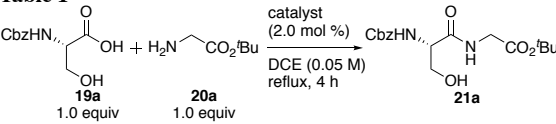


## 4. 基質支配型触媒的ペプチド結合形成反応の開発<sup>15, 16)</sup>

### 4-1. 触媒活性評価

次に当初の目的であった触媒的ペプチド形成反応に向けて検討を行った。はじめにカルボン酸基質として、 $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸であるセリン誘導体 **19a** とグリシン誘導体 **20a** を用い、これまでに実績のある  $B(OCH_2CF_3)_3$ 、DATB、*gem*-DBA と DBAA **1c** との触媒活性の比較検討を行った (Table 1)。その結果、DBAA **1c** を用いた場合には光学純度を一切損なうことなく 95% の高収率で得られた目的とするジペプチド **21a** が得られた (entry 1)。一方、他の触媒を用いた場合には、痕跡量から 47% の低収率でペプチドが得られるのみであり、DBAA **1c** の優位性が確認できた (entries 2-4)。

Table 1

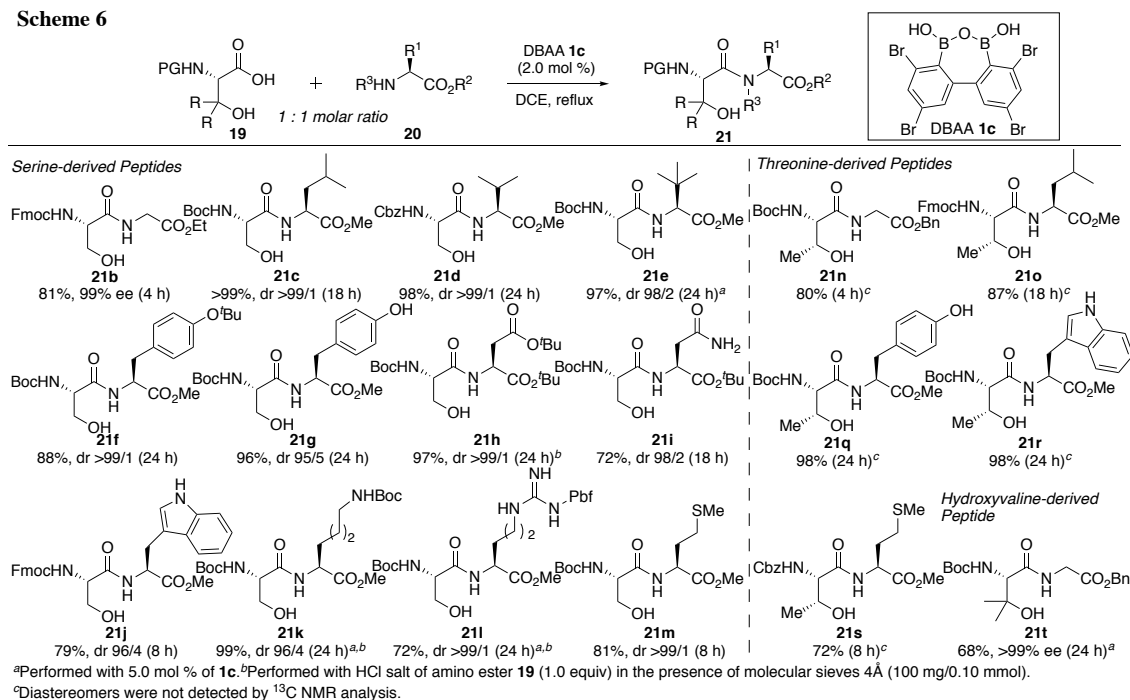


entry	catalyst	yield of <b>21a</b> (%) <sup>b</sup>	ee of <b>21a</b> (%) <sup>c</sup>
1	DBAA <b>1c</b>	95	>99
2	$B(OCH_2CF_3)_3$	trace	ND
3	DATB	47	98
4	<i>gem</i> -DBA	9	99

### 4-2. 触媒的ペプチド結合形成反応

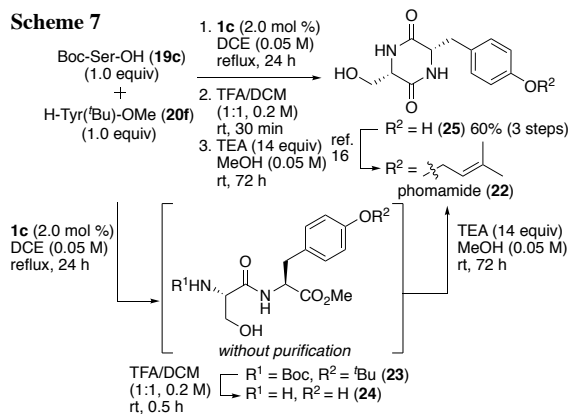
続いて触媒的ペプチド結合形成反応における基質適用範囲について検討を行った (Scheme 6)。 $\alpha$ -アミノエステル基質としては、グリシンのみならず (**21b**)、ロイシン、バリンのほか嵩高い *tert*-ロイシンを用いた場合においても適用可能であり、81% 以上の高収率で対応するジペプチドが得られた (**21c-21e**)。またアミン基質としてはチロシン誘導体やアスパラギン酸、アスパラギンなどの酸素官能基を有するアミン基質も適用可能であった (**21f-21i**)。さらに、トリプトファンやリシン、アルギニンなどの窒素官能基を有するアミン基質のほか、触媒の失活が懸念される硫黄原子を有するメチオニンも適用可能であり、いずれの場合にも中程度から高収率で対応するジペプチドが得られた (**21j-21m**)。本触媒反応はカルボン酸基質としてトレオニン誘導体も適用可能であり、対応するジペプチドが 72% 以上の高収率で得られた (**21n-21s**)。また  $\beta$  位にジェミナルジメチル構造を有する  $\beta$ -ヒドロキシバリンを基質とした場合にも、良好な収率にてジペプチド **21t** が得られることを見出した。以上のように、筆者は DBAA **1c** が  $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸を基質とするジペプチド合成に極めて有効であることを示すことができた。

Scheme 6



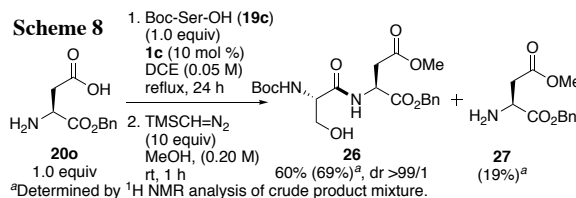
### 4-3. ジケトピペラジン合成への応用

続いて本触媒的ペプチド結合形成反応の応用研究の一環として、ジケトピペラジン骨格を有する天然物 phomamide(**22**)の合成研究を行った (Scheme 7)。2.0 mol %の **1c** 存在下、セリン誘導体 **19c** とチロシン誘導体 **20f** とのペプチドカップリングの後、得られたジペプチド **23** を精製することなく、セリン上の Boc 基とチロシン上の *tert*-ブチル基の脱保護に付した。その後、塩基性条件下、分子内環化反応を行うことでジケトピペラジン **25** を3工程 60%の収率で得た。得られた **25** は、フェノール性ヒドロキシ基の位置選択的 *O*-アルキル化反応によって phomamide (**22**)へと導くことが可能である<sup>17)</sup>。



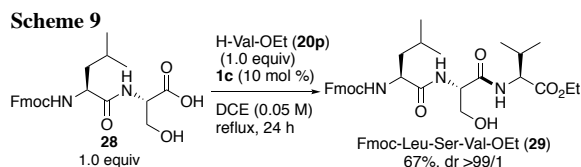
### 4-4. 化学選択的ペプチド結合形成反応

本触媒反応は、 $\beta$ -ヒドロキシカルボン酸ユニットを有するアミノ酸基質に対して、極めて高い化学選択性を示すことが明らかとなった (Scheme 8)。すなわち、遊離カルボキシ基を有するアスパラギン酸誘導体 **20o** をアミン基質として用いて検討を行ったところ、アスパラギン酸側鎖のカルボキシ基がアミド化された生成物は得られず、セリン由来のジペプチド **26** が、中程度の収率ながら単一の生成物として得られた。なおキラル HPLC 分析の結果、セリンカルボニル  $\alpha$  位のエピメリ化は一切観測されなかった。



### 4-5. トリペプチド合成への応用

DBAA **1c** は、カルバマート保護したアミノ酸基質のみならず、しばしばエピメリ化の抑制が課題となるアミドを組み込んだジペプチド基質においても反応が円滑に進行することを見出した (Scheme 9)。すなわち、セリンを C 末端アミノ酸残基とするジペプチドを基質として用いた場合にもエピメリ化することなく目的とするトリペプチド **29** を 67% の良好な収率にて得ることに成功した。



## 5. 結語

以上筆者は、これまで触媒として顧みられることのなかったビフェニル構造を基本骨格としたジボロン酸無水物 **1a** が  $\beta$ -ヒドロキシカルボン酸の触媒的アミド化における高活性な触媒として機能することを見出した。また、筆者は母型触媒となるジボロン酸無水物 **1a** への直接的な官能基導入法を利用することで、より高活性な臭素原子を含むジボロン酸無水物 **1b** または **1c** の開発に成功した。特徴的な新規複核ホウ素触媒 **1c** は、広範なヒドロキシカルボン酸ユニットを有する基質の触媒的アミド化に有効であり、その有用性は医薬品のグラムスケール合成により実証された。さらに、筆者は **1c** が、セリンやトレオニン、 $\beta$ -ヒドロキシバリンなどの  $\beta$ -ヒドロキシ- $\alpha$ -アミノ酸をカルボン酸基質とする触媒的ペプチド結合形成反応にも有効であることを明らかにした。ジボロン酸無水物の一方のホウ素原子がヒドロキシカルボン酸基質のヒドロキシ基部位を認識し共有結合を形成した後に、カルボン酸部位を活性化することで基質支配に基づいた高い触媒活性を実現している。筆者が開発した触媒反応により、ペプチド化学合成分野における飛躍的な発展が期待される。

## References

- 1) (a) Constable, D. J. C.; Dunn, P. J.; Hayler, J. D.; Humphrey, G. R.; Leazer, J. L., Jr.; Linderman, R. J.; Lorenz, K.; Manley, J.; Pearlman, B. A.; Wells, A.; Zaks, A.; Zhang, T. Y. *Green Chem.* **2007**, *9*, 411–420. (b) Henninot, A.; Collins, J. C.; Nuss, J. M. *J. Med. Chem.* **2018**, *61*, 1382–1414. (c) Lau, J. L.; Dunn, M. K. *Bioorg. Med. Chem.* **2018**, *26*, 2700–2707.
- 2) Hamley, I. W. *Chem. Rev.* **2017**, *117*, 14015–14041.
- 3) Davie, E. A. C.; Mennen, S. M.; Xu, Y.; Miller, S. J. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 5759–5812.
- 4) Albericio, F.; El-Faham, A. *Org. Process Res. Dev.* **2018**, *22*, 760–772.
- 5) Ishihara, K.; Ohara, S.; Yamamoto, H. *J. Org. Chem.* **1996**, *61*, 4196–4197.
- 6) de Figueiredo, R. M.; Suppo, J.-S.; Campagne, J.-M. *Chem. Rev.* **2016**, *116*, 12029–12122.
- 7) Arkhipenko, S.; Sabatini, M. T.; Batsanov, A. S.; Karaluka, V.; Sheppard, T. D.; Rzepa, H. S.; Whiting, A. *Chem. Sci.* **2018**, *9*, 1058–1072.
- 8) Sabatini, M. T.; Boulton, L. T.; Sheppard, T. D. *Sci. Adv.* **2017**, *3*, e1701028.
- 9) (a) Noda, H.; Furutachi, M.; Asada, Y.; Shibasaki, M.; Kumagai, N. *Nat. Chem.* **2017**, *9*, 571–577. (b) Liu, Z.; Noda, H.; Shibasaki, M.; Kumagai, N. *Org. Lett.* **2018**, *20*, 612–615.
- 10) Michigami, K.; Sakaguchi, T.; Takemoto, Y. *ACS Catal.* **2020**, *10*, 683–688.
- 11) Shimada, N.; Hirata, M.; Koshizuka, M.; Ohse, N.; Kaito, R.; Makino, K. *Org. Lett.* **2019**, *21*, 4303–4308.
- 12) (a) 日本薬学会第 137 年会 (2017 年 3 月 26 日、仙台、口頭発表、26T-pm08S ○腰塚正佳、平田舞、海藤遼人、嶋田修之、牧野一石). (b) 第 43 回反応と合成のシンポジウム (2017 年 11 月 6 日、富山、ポスター発表、1P-26S ○腰塚正佳、平田舞、嶋田修之、牧野一石). (c) 日本薬学会第 138 年会 (2018 年 3 月 26 日、仙台、口頭発表、26T-am07S ○腰塚正佳、平田舞、大瀬尚希、嶋田修之、牧野一石). (d) 日本プロセス化学会 2018 サマーシンポジウム (2018 年 7 月 26 日、東京、ポスター発表、1P-17 ○嶋田修之、平田舞、腰塚正佳、大瀬尚希、牧野一石).
- 13) Das, A.; Hübner, A.; Weber, M.; Bolte, M.; Lerner, H.-W.; Wagner, M. *Chem. Commun.* **2011**, *47*, 11339–11341.
- 14) Shimada, N.; Takahashi, N.; Ohse, N.; Koshizuka, M.; Makino, K. *Chem. Commun.* **2020**, DOI: 10.1039/D0CC05630H.
- 15) Koshizuka, M.; Makino, K.; Shimada, N. *submitted*.
- 16) (a) 第 48 回複素環化学討論会 (2018 年 9 月 5 日、長崎、口頭発表、3O-14 ○腰塚正佳、嶋田修之、牧野一石). (b) 第 44 回反応と合成のシンポジウム (2018 年 11 月 5 日、熊本、ポスター発表、1P-12、○嶋田修之、腰塚正佳、牧野一石). (c) 日本薬学会第 139 年会 (2019 年 3 月 23 日、千葉、口頭発表、23L-pm18S、○腰塚正佳、嶋田修之、牧野一石).
- 17) Mollica, A.; Costante, R.; Fiorito, S.; Genovese, S.; Stefanucci, A.; Mathieu, V.; Kiss, R.; Epifano, F. *Fitoterapia* **2014**, *98*, 91–97.

以上