

《様式B》

研究テーマ 「シンコナルカロイドーペプチドハイブリッド型高分子不斉触媒材料の開発」

研究責任者 所属機関名 豊橋技術科学大学
官職又は役職 助手

氏名 藤澤 郁英 メールアドレス ifujisawa@ens.tut.ac.jp

共同研究者 所属機関名 豊橋技術科学大学
官職又は役職 教授

氏名 伊津野 真一

所属機関名 黒金化成株式会社

官職又は役職 研究部長

氏名 小黒 聡

(平成 27 年度募集) 第 28 回 助成研究 完了報告書

上記様式記載後

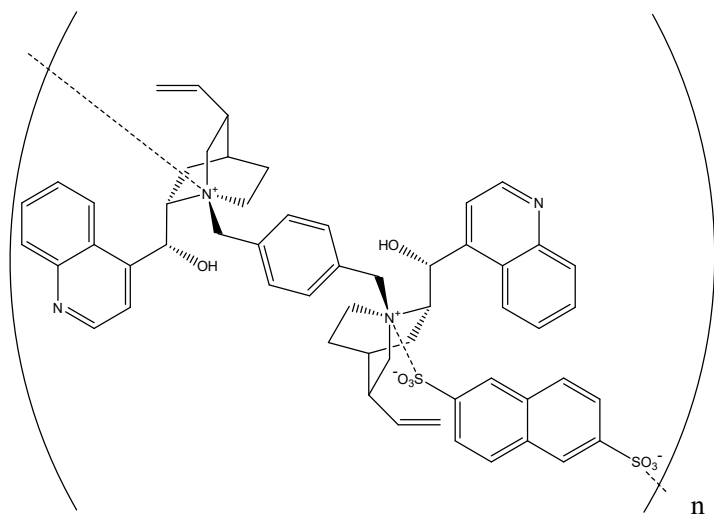
1. 実施内容および成果ならびに今後予想される効果の概要 (1, 000 字程度)

※産業技術として実用化の可能性や特許出願 (予定も含む) の有無についてもご記載ください。

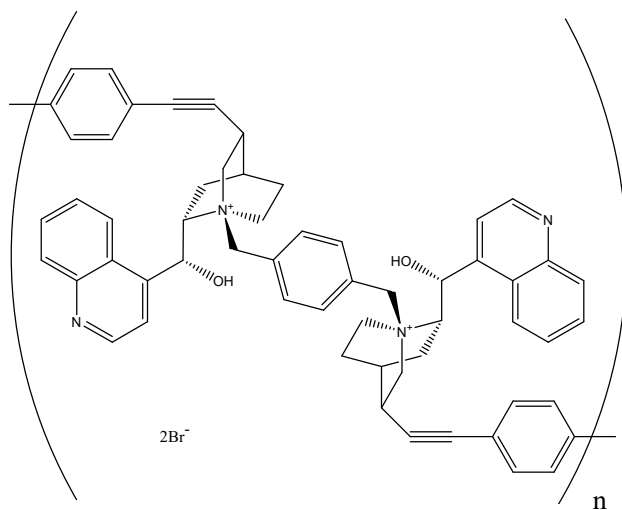
ペプチド合成装置(MultiPep CF)を使用し、配列 GPPGPPP のペプチドを合成した。HPLC カラム (Sepax HP-18)により精製した。NMR と ESI-MS により、微量の溶媒が含まれているが、目的のペプチドが高純度で合成できたことを確認した。

どのようなシンコナルカロイド不斉触媒を高分子化すれば良いかを検討するために、論文 (S.Lou, N. Cuniere, B.-N. Su, and L. A. Hobson, *Org. Biomol. Chem.* 2013, **11**, 6796-6805) を参考にして、既存のシンコナルカロイド不斉触媒を用いて反応を行った。イオン結合型ポリマー A、共有結合型ポリマー B、9-メチルアントラセニルシンコニジン四級アンモニウム塩 C を触媒に用いて不斉合成反応 I を行い、HPLC キラルカラム(CHIRALPAK AD-RH)により、光学純度を測定した。ポリマーA では e.e.が 8%の生成物が得られ、ポリマーB では反応の進行が見られなかった。四級アンモニウム塩 C では e.e.が 35%の生成物が得られた。触媒 C をポリマー (合成混合比 ジビニルベンゼン:スチレン:スチレンスルホン酸 = 20:50:30) とイオン結合させて、不斉合成反応 II を行った。反応後の NMR より、触媒反応が進んでいないことが分かった。

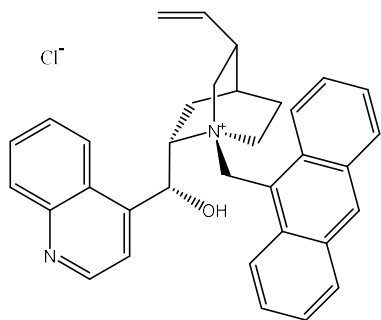
イオン結合型ポリマー A



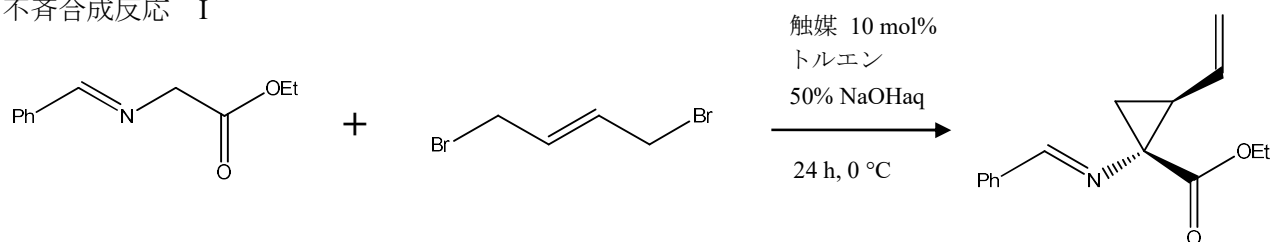
共有結合型ポリマー B



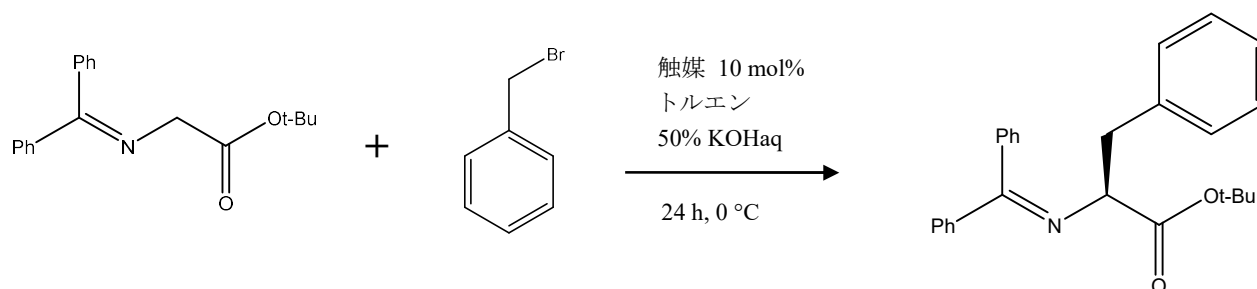
9-メチルアントラセニルシンコニジン四級アンモニウム塩 C



不斉合成反応 I

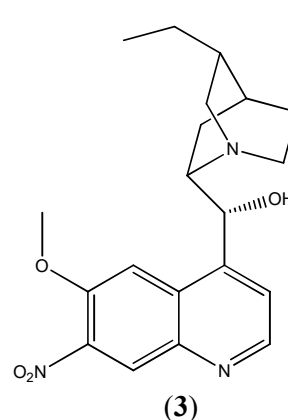
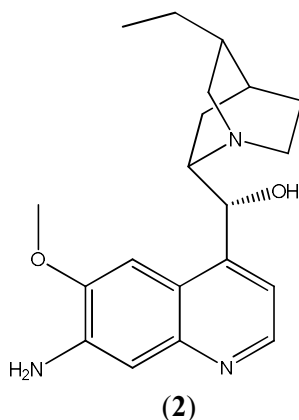
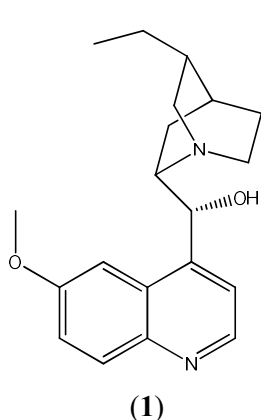


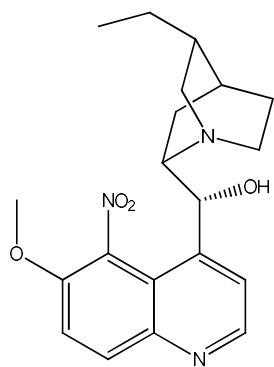
不斉合成反応 II



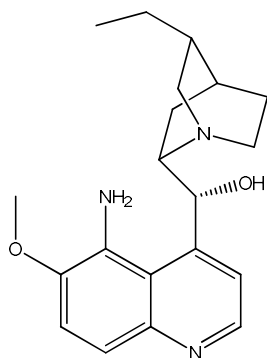
検討した反応系では、条件が少し異なると反応が進まず、また期待した光学純度の生成物を得ることができなかった。

このため、別の方法で高分子化することを考えた。ペプチドとペプチド結合により結合できるアミノ基を付加するため、ヒドロキニン(1)を原料にして新規化合物(2)の合成を試みた。初めにヒドロキノンのニトロ化を文献 (*Molecules* **2007**, *12*, 1259-1273) を参考にして行った。NMRにより、ニトロ化ヒドロキノンの合成を確認した。ニトロ化ヒドロキニンを Zn 触媒により還元し、アミノ化ヒドロキニンを合成し、NMR で確認した。ニトロ化ヒドロキニンは(3)の構造を予測していたが、X線結晶構造解析により、(4)の構造であることが判明した。立体障害により(4)の構造は取れないと予測していたが、予測に反した結果が得られた。(4)の構造だと触媒反応を阻害する可能性が高いため、ニトロ化方法を再度検討している。また、予測と異なるが、(4)を還元した(5)の新規化合物が得られているので、不斉触媒活性の有無も同時に調査していく予定である。





(4)



(5)

2. 実施内容および成果の説明 (A 4 で、5 ページ以内)

1) ペプチド GPPGPPP の合成

ペプチド合成装置(MultiPep CF)を使用し、縮合剤に HBTU、有機塩基に NMM、溶媒に DMF、Fmoc 基の脱保護に piperidine を使用した。C 端アミノ酸は樹脂に結合した H-Gly-Trt(2-Cl)-Resin (渡辺化学工業)を使用した。伸長させるアミノ酸は Fmoc-Pro-OH と Fmoc-Gly-OH (渡辺化学工業)を使用した。合成後、TFA で樹脂から切り離し、t-butylmethylether 中で遠心分離で沈殿させて回収した。0.05% TFA を含む水とアセトニトリルの混合溶媒を使用し、HPLC カラム(Sepax HP-18)により精製した。化合物は NMR (図 1) と ESI-MS (図 2) により確認した。

図 1

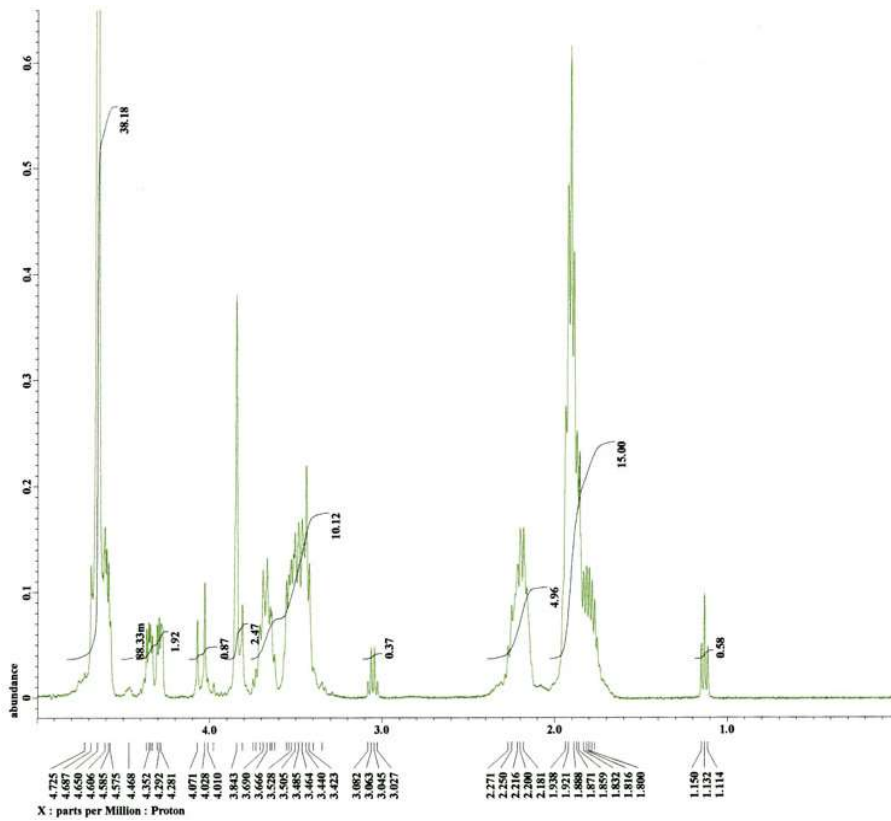
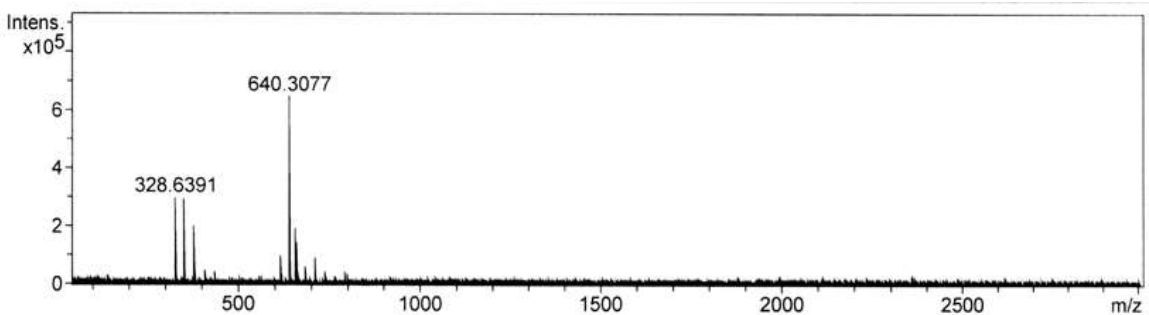


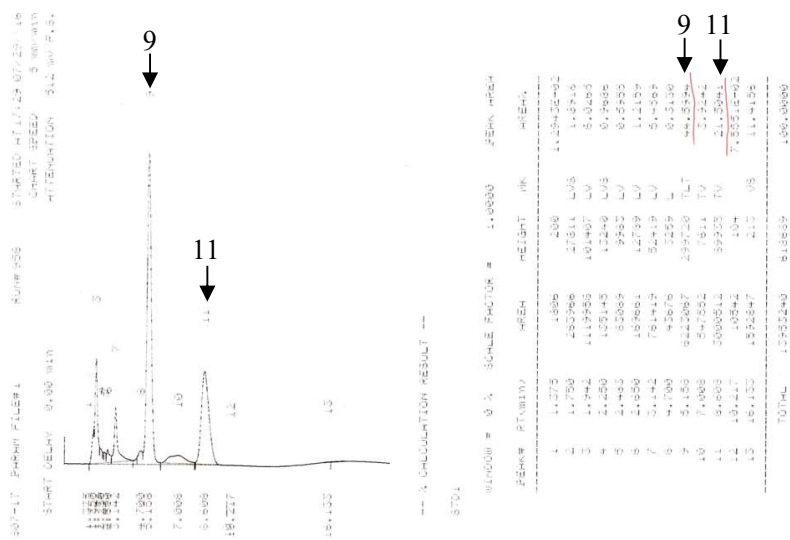
図 2



2) シンコナルカロイド不斉触媒高分子の検討

論文 (S.Lou, N. Cuniere, B.-N. Su, and L. A. Hobson, *Org. Biomol. Chem.* 2013, **11**, 6796-6805) を参考にして、シンコナルカロイド不斉触媒を用いて反応を行った。概要に示した、既知のイオン結合型ポリマー A、9-メチルアントラセニルシンコニジン四級アンモニウム塩 C、本研究室で合成された共有結合型ポリマー B を触媒に用いて不斉合成反応 I を行い、メタノール : 20 mM 炭酸水素ナトリウム水溶液=6:4 の溶媒を用い、HPLC キラルカラム(CHIRALPAK AD-RH)により、光学純度を測定した。ポリマーA では e.e. が 8%の生成物が得られ、ポリマーB では反応の進行が見られなかった。四級アンモニウム塩 C では e.e. が 35%の生成物が得られた (図 3)。触媒 C は低分子であるため、高分子化するためにポリマー (合成混合比 ジビニルベンゼン:スチレン:スチレンスルホン酸 = 20:50:30) とイオン結合させて、不斉合成反応 II を行ったが、反応後の NMR より、触媒反応が進んでいないことが分かった。

図 3 HPLC チャート (ピーク 9 とピーク 11 がエナンチオマーによるものであり、面積比から e.e. を求めた)



3) ニトロ化ヒドロキニンの合成

文献 (*Molecules* **2007**, **12**, 1259-1273) を参考にヒドロキニンのニトロ化を行った。ヒドロキニン(M. W. 326.2) 1.637 g (5.01 mmol)と濃硫酸 9.0 ml を試験管に入れ、氷冷下で攪拌しながら硝酸カリウム(M. W. 101.1) 0.560 g (5.54 mmol)を 30 分かけて少しずつ加えた。室温に戻し、15 時間反応させた。水酸化カリウム 15 g と水 10 ml を加え、反応を停止させた。酢酸エチル 50 ml を 10 回に分けて加えて良く攪拌し、有機層を回収した。水層に水酸化カリウムを加え、pH 12

にした後、更に酢酸エチル 50 ml を 10 回に分けて加えて攪拌し、有機層を回収した。精製の為、有機層を分液漏斗に移し、炭酸水素ナトリウムの飽和水溶液を加えて良く振り、有機層を回収し、無水硫酸マグネシウムを少量加えて脱水した。エバポレーターで溶媒を除いた後、減圧乾燥した。粗収量は 0.816 g (2.20 mmol) であった。反応途中で溶液体積の 1/5 をサンプリングに使用したので、それを考慮すると粗収率は約 55% であった。プロトン NMR の測定 (JNM-ECS 400, 日本電子) によりキノリン環のプロトンのケミカルシフトの大きさの変化を確認 (図 4) し、ESI-MS の測定 (micrOTOF II, Bruker) により得られた m/z と予測分子量の比較によって、合成した化合物の確認を行った。ヒドロキノリンのニトロ化は確認できたが、ニトロ基の位置を確定できなかったため、単結晶 X 線構造解析により分子の立体構造の決定を行った (図 5)。ヒドロキノリンの水酸基やキヌクリジン構造との立体障害により、ニトロ基はキノリン環の 5 位には結合せず、7 位に結合すると予想していたが、得られた分子構造では、立体障害を起こして他の結合角を歪めながらもキノリン環の 5 位にニトロ基が結合していた。予想していた構造とは異なっていたが、得られた分子の合成方法や立体構造は新規のものなので、条件を再検討し収率を向上させて論文で発表する予定である。

図 4

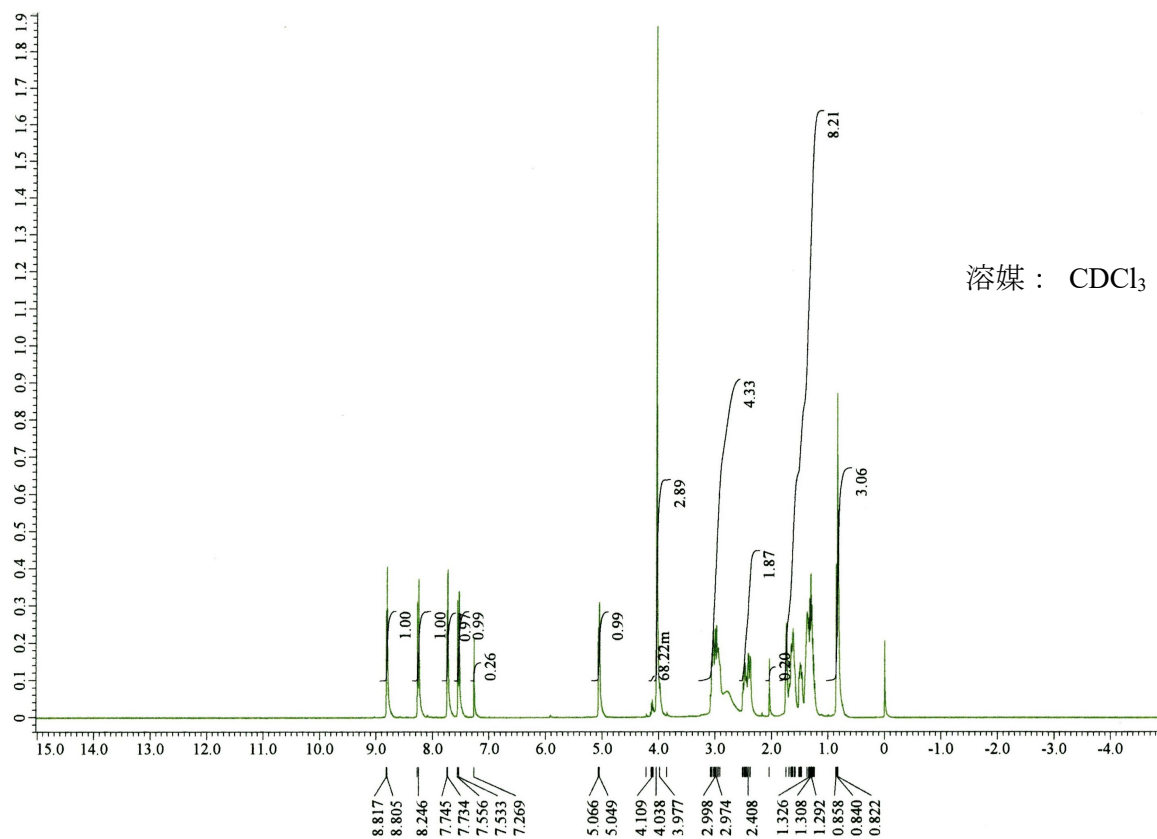
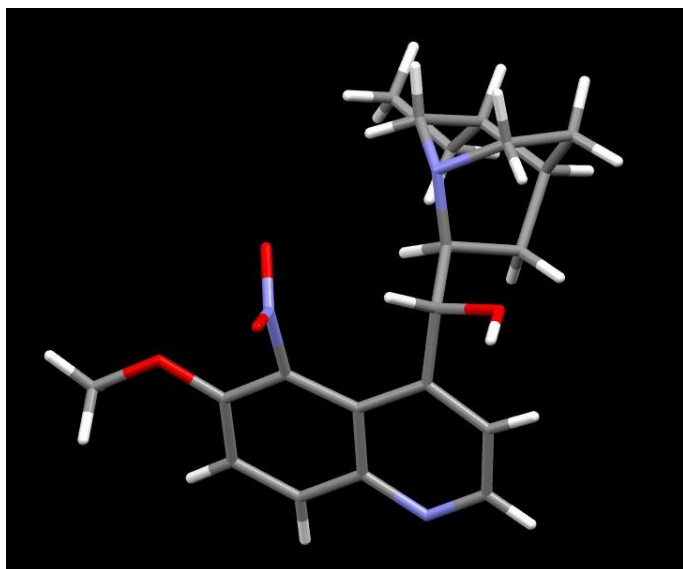


図 5



4) アミノ化ヒドロキニンの合成

Bechamp Reduction により、ニトロ化ヒドロキニンの還元を行った。金属には亜鉛粉末を、酸には酢酸を使用した。ニトロ化ヒドロキニン (M. W. 371.2) 0.742 g (2.00 mmol) に 0 °C の無水メタノール 20 ml を加えて溶かし、酢酸 0.17 ml (3 mmol) を加えた。すりつぶした亜鉛粉末 1.344 g (20 mmol) を無水メタノール 5 ml と混合し、窒素雰囲気下で 0 °C のニトロ化ヒドロキニン溶液に少しずつ加えた。さらに 0.1 ml の酢酸を 10 分かけて少しずつ加えた。室温に戻し、窒素雰囲気下で 3 時間攪拌し反応させた。反応後、ろ紙でろ過し、亜鉛粉末を除き、エバポレーターでメタノールを除いた。酢酸エチル 60 ml、1 M 水酸化ナトリウム 6 ml、水 15 ml を加え、分液漏斗に移し、振とうした後、有機層を回収した。酢酸エチル 50 ml で抽出を 2 回行い、酢酸エチル溶液を合わせて分液漏斗に入れ、炭酸ナトリウム飽和水溶液 50 ml を加えて振とうし、有機層を回収した後、無水硫酸マグネシウムで脱水し、エバポレーターで溶媒を除いた。粗収量は 0.394 g (1.15 mmol) で粗収率は 58% であった。NMR (図 6) と ESI-MS で合成を確認した。アミノ基にペプチドのカルボキシル基を反応させ、ペプチド結合を形成させれば、シンコナルカロイド-ペプチドハイブリッド型高分子不斉触媒が合成できる予定である。

