

ペプチドの革新的合成

中部大学

山本 尚

Peptide Synthesis was changed over 60 years from 1960 using innovation of solid state synthesis. Unfortunately, this method could not scale up and only useful for the synthesis of mg quantity.

We try to change the content of peptide synthesis completely and introduce three completely new innovations..

1. 緒言

地上の全ての生物はペプチドとペプチドが繋がったタンパク質で生きてきた。そのためペプチドは人類にとって欠かすことのできない重要物質である。1960年まで、ペプチドは人間が合成できないと言われてきた。しかし、若いロバート・メリフィールドは固相合成という天才的な手法でこの問題を解決した¹⁾。しかし、その後の60年間、この手法の何らの破壊的イノベーションも発明されないうまま、持続的イノベーションのみの発展で時間が流れた。そのため、現行のペプチド合成では微量合成は可能であるが、キロヤトンの工業的合成への問題点は解決されないまま現代にバトンをつないでしまっている。我々の研究室ではこの問題を解決すべく試行錯誤し、3つの主要な発明によりこれまでの固相合成を根底から覆す新手法を開発した。これは従来法を新たな手法に刷新できる破壊的イノベーションとして期待できる。

2. 方法

2.1.

ペプチド合成はこれまでアミノ酸もしくはペプチドC末端のカルボン酸を活性化する手法で合成を進めてきた。そのため、1つのアミノ酸を連結させるためには少なくともペプチド結合形成反応に加えて保護・脱保護反応の3工程が必要となるが、アミノ酸の種類に応じて更なる工程が必要となるケースも少なくない。我々はこの状況を根底から革新して、アミノ酸にジケトピペラジンを結合させる連続収束型ペプチド伸長反応を開発した。ジケトピペラジンはジペプチド環化体であり、対面に位置するアミド結合の片

側にBoc基などの保護基を修飾することで活性化することが可能であり、求核性アミノ酸エステルとともに攪拌することで位置選択的に開環に伴うアミド交換反応が進行し、対応する線状トリペプチドが得られる。この特徴的な反応はあらゆる添加剤を必要とせず進行するが^{2,3)}、有機酸触媒を添加すると劇的に加速し、わずか15分で反応が完結することも見出している。この手法はアミノ酸エステルだけでなくペプチドエステルを求核種として適用可能であるため、繰り返しBoc-保護ジケトピペラジンを系内に添加していくことで、ジペプチドを最小単位とした連続伸長によるオリゴペプチド合成が可能となる(two by two法; 図1)。この戦略により従来多工程により構成されるペプチド合成を飛躍的に簡略化した。

2.2.

分子内に複数アミド基が含まれるペプチドは、長鎖ペプチドになるにつれて分子内、もしくは分子間水素結合が複雑に構築され、脂溶性が極度に低下することによる固体化が観測される。この凝集体は一切の有機溶媒に不溶となるため、その後の伸長反応をはじめとする有機反応を全く受け付けない。この問題点は長きにわたるペプチド液相合成の課題となっており、多くの化学者を苦しめてきた。我々はこの一般的な問題について、含ケイ素TAGを開発することで解決した。ペプチドC末端にケイ素原子を含む長鎖アルキルエステルやベンジルエステルを調製し、長鎖ペプチド合成を試みたところ、短鎖ペプチドと同様の効率でペプチド結合を形成することが可能となり、標的化合物の合成に成功した⁴⁾。特にSi-Si結合をもつスーパーシリル基は特に有機溶媒に対する可溶化効率が高く、ケイ素原子に対して3つのトリアルキルシリル基が結合したTAGをブロパルギルアルコールと接続することで更なる脂溶性向上に成功した(図2)。これにより、10ペプチドほどの長鎖ペプチドも固体化せず、油状で取り扱いできることを明らかにした⁵⁾。



Destructive Innovation of Peptide Synthesis

Hisashi Yamamoto

Chubu University

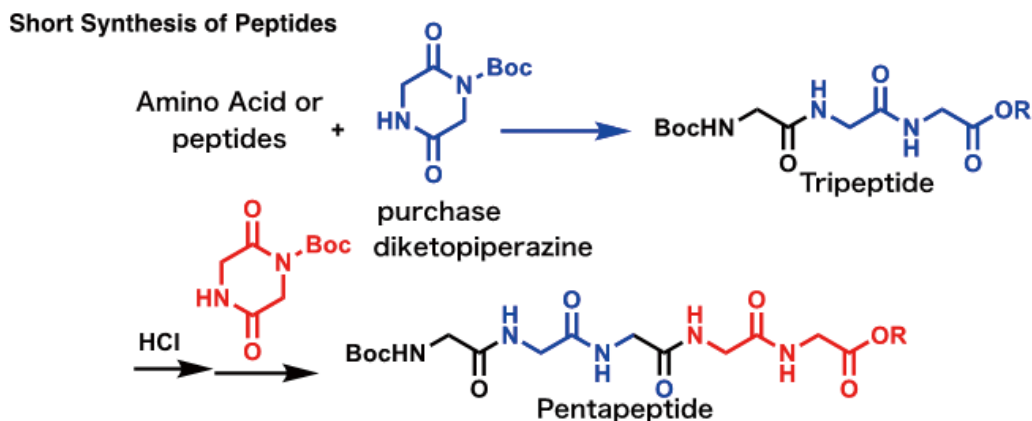


図1 Two by Two 法

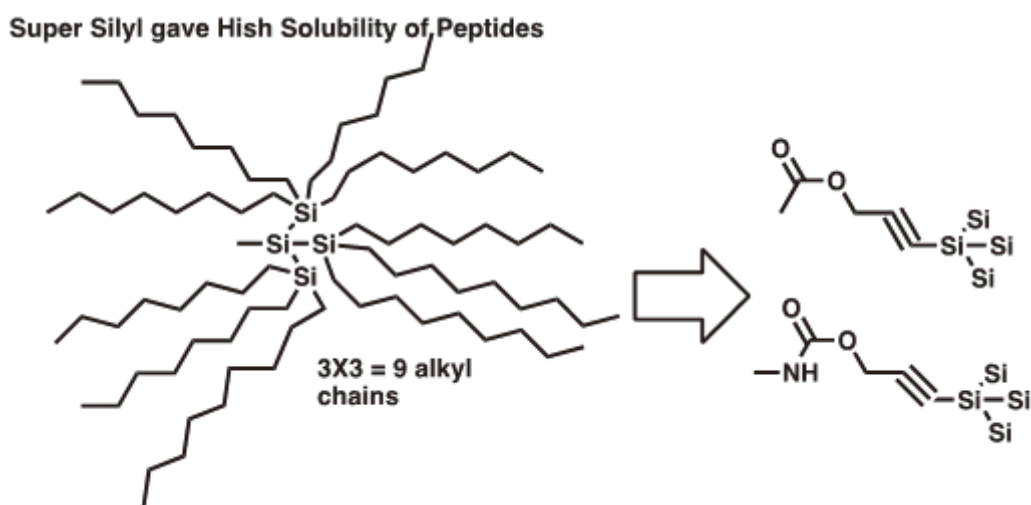


図2 スーパーシリル法

2. 3.

活性を有するペプチドは5ペプチド以上のオリゴペプチドや20ペプチドを超える長鎖ペプチドが大部分を占めている。しかし、長鎖ペプチド合成の反応開発ははまだアミノ酸を一つずつ連結し、脱保護を繰り返す手法に依存していた。一方、我々は2.1.の合成で短鎖ペプチド合成法の簡略化に成功し、2.2.の成果により長鎖ペプチド合成を液相合成で可能となるTAGを開発した。そこで最後に短鎖ペプチドから長鎖ペプチドを効率的に合成する手法の開発に着目した。我々はケイ素を含むジペプチド環化体であるシラサイクリックジペプチドの合成・単離に世界で初めて成功し、報告している(図3)⁶⁾。この化合物は空气中安定である一方、フッ素系試薬によって簡単に脱離が可能となるSi-NおよびSi-O結合によって構成されているためジペプチドへの両末端伸長が可能となる。そのため、このシラサイクリック化合物の両末端にアミノ酸を連結したテトラペプチド合成、またここで調製したテトラペプチドをシラサイクリック化合物の両末端に結合する10ペプチド合成、

などの収束型ペプチド伸長反応が可能となり、所望の長鎖ペプチドに短工程でたどり着ける効率的な手法を開発した。

3. 結果

2.1. 前述したBoc-ジケトピペラジンを現在10数種合成しており、そのうち伸長反応に応用した例全てにおいて80%収率を超える高収率で対応するトリペプチドが得られている。またそこで合成したトリペプチド体に対して新たなBoc-ジケトピペラジンを結合させるペンタペプチド合成も70%以上の収率で進行することを確認している。2.2.で記述したTAGを使用した長鎖ペプチド合成では抗菌作用を示すDRGN-I(14ペプチド)やアラニンにより構成される7ペプチド、HER2阻害作用を示すNalipepimut-S(9ペプチド)の合成を順次成功させ、その脂溶化効果を立証した。2.3.で示したシラサイクリック化合物は天然、非天然アミノ酸を含む50例の基質を合成し、そのうち24例では収率90%を超えている。またこのシラサイクリック化合物を利用した収束型合成にも挑戦し、現在6ペプチド

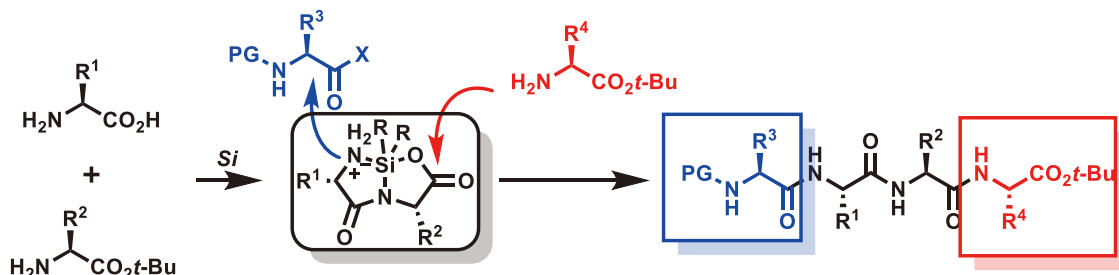


図3 収束型合成法

をワンポット反応で効率的に合成できることを明らかにした。

4. 考察

ペプチドは地上の生き物に欠かすことのできない最重要物質である。特に化粧品を含む医薬分野ではペプチド医薬品が未来を担う中分子創薬のエースと言って良い。現在毎分毎秒ペプチド合成に携わる研究室において新たなペプチドが合成されているが、その多くが医薬品としての重要性を見出せないまま廃棄されている。明日の医薬品はペプチドが負うといっても過言でないにもかかわらず、効果的なペプチドの合成が困難であることが問題を複雑化している。我々のペプチド合成がこの問題の解決の糸口となってくれることを切に願う。

(引用文献)

- 1) R. B. Merrifield, Solid Phase Peptide Synthesis. I. The Synthesis of a Tetrapeptide. *J. Am. Chem. Soc.*, **85**, 2149-2154 (1963).
- 2) W. Muramatsu, H. Yamamoto, An economical approach for peptide synthesis via regioselective C-N

bond cleavage of lactams. *Chem. Sci.*, **13**, 6309-6315 (2022).

- 3) I. Ramakrishna, T. Hattori, H. Yamamoto, Triisobutylaluminum-Mediated Regioselective Protection of Sterically Hindered Amide NH of Cyclo-(AA-Gly): Key Building Block for Next-Generation Peptide Synthesis. *Synlett*, **34**, A-H (2023).
- 4) A. Wu, I. Ramakrishna, T. Hattori, H. Yamamoto, Silicon-based hydrophobic tags applied in liquidphase peptide synthesis: protected DRGN-1 and poly alanine chain synthesis. *Org. Biomol. Chem.*, **20**, 8685-8692 (2022).
- 5) A. Wu, H. Yamamoto, Super silyl-based stable protecting groups for both the C- and N-terminals of peptides: applied as effective hydrophobic tags in liquid-phase peptide synthesis. *Chem. Sci.*, **14**, 5051-5061 (2023).
- 6) T. Hattori, H. Yamamoto, Synthesis of Silacyclic Dipeptides: Peptide Elongation at Both N- and C-Termini of Dipeptide. *J. Am. Chem. Soc.*, **144**, 1758-1765 (2022).