

令和 4 年 6 月 13 日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21188

研究課題名(和文)環状ペプチドの新しい合成概念の創造

研究課題名(英文)Creation of New Concept in Synthesis of Cyclic Peptide

研究代表者

布施 新一郎(Fuse, Shinichiro)

名古屋大学・創薬科学研究科・教授

研究者番号：00505844

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,800,000円

研究成果の概要(和文)：環状ペプチドは医薬品としてますます重要性を増しているが、その一般的な合成法は、1)高価な縮合剤を多量に要する、2)反応完結に長時間を要する、3)煩雑な精製操作を必要とするといった問題点をもつ。これらの問題点は副反応を回避するために温和な反応性をもつ縮合剤を利用している点に起因する。本研究では、従来法とは異なり、高い反応性をもつトリホスゲンを用い、反応温度と反応時間を厳密に制御可能なマイクロフロー合成法を駆使することで、競合する副反応を抑えつつ、廃棄物の排出を抑え、短時間でラクタムおよび環状ペプチドを合成できる手法の開発に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

温和な反応性の反応剤を用いて長時間反応させる従来手法と全く逆の、高い反応性の反応剤を用いて短時間で反応させる手法を確立し、有用性を実証できた点は学術的に意義深い。また、環状ペプチドは医薬品としてますます重要性を増しており、実際に承認されたペプチド医薬品の3分の2は環状ペプチドであること、開発した手法は反応時間が短いのみならず、安価な反応剤を用い、廃棄物の量も少なく、また除きやすいこと、さらにはスケールアップ合成を再現性よく、容易に行えるフロープロセスであることから今後の産業応用への展開も期待できる。

研究成果の概要(英文)：Cyclic peptides have become increasingly important as drugs. The most general peptide cyclization approach has several drawbacks including 1) requirement of excess amount of expensive coupling agents, 2) long reaction time, 3) requirement of tedious purifications. The conventional approach used coupling agents with mild reactivity in order to suppress undesired reactions, however the use of such agents has caused above problems. In contrast to the conventional approach, highly active triphosgene was used in this study. The undesired reactions were successfully avoided by using micro-flow technologies that enable precise control of reaction time and temperature. We achieved rapid, mild, and less wasteful synthesis of lactams and a peptide.

研究分野：有機合成化学

キーワード：ペプチド 環状ペプチド ラクタム トリホスゲン マイクロフロー

1. 研究開始当初の背景

これまでに 60 のペプチド医薬品が FDA により承認され、現在 140 以上の候補化合物が臨床試験中である。環状ペプチドは代謝安定性や膜透過性、標的分子への親和性が鎖状ペプチドよりも高いとされており、医薬品としての重要性はますます高まっている。実際に、上述の承認されたペプチド医薬品の約 3 分の 2 は環状ペプチドである。環状ペプチドの最も一般的な化学合成法は、C 末端、N 末端双方遊離の鎖状ペプチドを合成し、これを環化する手法であるが、従来法は穏やかな反応性の縮合剤により C 末端のみを選択的に活性化する概念を基盤とする。これは高い反応性をもつ縮合剤を用いると、N 末端側も反応してしまうために続く環化が進行しなくなるためである。特に環化反応に適する穏やかな反応性の縮合剤としてホスホニウム系の縮合剤 (PyBOP、PyAOP、DEPBT 等) が良いとされているが、これらの縮合剤は高価で原子効率が低く、しかも通常ペプチド基質に対して過剰量を要するため多量の廃棄物を生じる。このため、環状ペプチドの精製には多大な労力を要することが多い。しかも競合する望まない分子間反応を回避するために、多くの場合、低濃度で長時間反応を実施する必要があるため、反応完結に半日から数日程度を要することが珍しくない。これらの点から環状ペプチドの合成は効率が低いものとなっており、産学を問わず大きな問題となっていた。

2. 研究の目的

本研究では、上述の問題を解決すべく、従来法とは逆の概念からなる合成法を提案した。すなわち、高活性で安価なトリホスゲンを用いて C 末端、N 末端を共に反応させて、一度環状中間体を生成させ、続く環縮小反応で環状ペプチドを得る手法の開発を目的とした。本手法ではトリホスゲンを用いるため、環化反応に適するとされているホスホニウム系の縮合剤と比してはるかに低コストである。また、副生物は二酸化炭素と塩化水素であるため除去容易で廃棄物量を低減できる。さらには、トリホスゲンの高い反応性から速やかに環化反応を進行させられるものと期待した。

3. 研究の方法

通常、トリホスゲンのような高い反応性を有する反応剤を用いて環化反応を実施すると上述した通りの副反応を惹起するリスクが極めて高い。一方で、微小な流路を反応場とするマイクロフロー合成法では、その高い混合効率と熱交換効率から、反応時間と温度を厳密に制御可能であり、これらの特長を生かして、副反応を抑止することとした。まずは、合成難度の低いラクタムを標的化合物とし、最適条件を突き止めることとした。その後様々な官能基を有するラクタムを合成することで、確立した条件における官能基共存性を検証し、最後にペプチドの環化を検討することとした。

4. 研究成果

R2 年度に、まず合成難度の低い、比較的単純な構造のラクタムの合成を検討した結果、トリホスゲンと *N*-メチルモルホリンを組み合わせる手法、およびトリホスゲンと *N*-メチルイミダゾールを組み合わせる手法の 2 つを確立し、これらを基質の構造に応じて使い分け、なおかつマイクロフロー合成法を駆使して副反応を抑止しつつ高収率で環化を進行させることに成功した。開発した手法は廃棄物量が少なく、かつ除きやすい利点を持ち、しかも酸性、塩基性で不安定な種々の官能基が共存することを確認した。合成難度の低いラクタ

ムが標的化合物であったとはいえ、従来、安価で廃棄物の少ない反応剤を用いる手法は条件が過酷で官能基共存性が低く、逆に、温和な条件で実施できる官能基共存性の高い手法では高価で多量の廃棄物を排出する縮合剤を要していたため、本研究で開発した、官能基共存性が高く、温和な条件で実施でき、廃棄物も少なく除きやすいラクタム化手法は従来法と比して多くの利点をもつ。

続いて、環状ペプチドの合成を検討したところ、トリホスゲンとN-メチルイミダゾールを組み合わせる手法を用いることで、良好な収率で目的物を得ることに成功した。従来法では環化反応に高価な縮合剤を過剰（基質に対し10倍量）に用いて半日を要して収率4割弱で環化体を得ていたが、開発した手法ではトリホスゲンを着質に対して等量用いて、わずか10秒で、収率72%で環化体を得られたため、従来法に比した利点は明らかである。これらの結果によりラクタムや環状ペプチドの合成における新たなアプローチを提供できた。

R3年度に反応機構に関しての知見を得るべく中間体の追跡を行った。その結果、当初想定していた環状の酸無水物が中間体として生成していることが示唆されるスペクトル解析結果を得た。また、さらなる検討の結果、この中間体が安定であると、その後の目的物への変換が遅くなることがわかった。現在も、この解決に向けたさらなる検討を続けており、このような基質においても高収率で環状ペプチドを得られる手法をほぼ確立している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 S. Fuse, K. Komuro, Y. Otake, H. Masui, H. Nakamura	4. 巻 27
2. 論文標題 Rapid and mild lactamization using highly electrophilic triphosgene in a micro-flow reactor	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Chemistry a European Journal	6. 最初と最後の頁 7525-7532
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1002/chem.202100059	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 R. Okabe, N. Sugisawa, S. Fuse	4. 巻 20
2. 論文標題 Micro-flow rapid dual activation approach for the urethane-protected α -amino acid N-carboxy anhydride synthesis	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Organic and Biomolecular Chemistry	6. 最初と最後の頁 3303-3310
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1039/D20B00167E	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 H. Masui, S. Fuse	4. 巻 26
2. 論文標題 Recent advances in the solid- and solution-phase synthesis of peptides and proteins using micro-flow technology	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Organic Process Research and Development	6. 最初と最後の頁 ASAP
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1021/acs.oprd.2c00074	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 H. Masui, S. Fuse	4. 巻 80
2. 論文標題 Micro-flow peptide syntheses using highly electrophilic acyl ammonium cations	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 有機合成化学協会誌	6. 最初と最後の頁 11月号掲載予定
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 3件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 小室敬史、小竹佑磨、中村浩之、布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフローリアクター内でのトリホスゲンを用いたラクタム合成法の開発
3. 学会等名 第10回CSJ化学フェスタ
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 小室敬史、小竹佑磨、中村浩之、布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフローリアクター内でのトリホスゲンを用いた迅速なラクタム合成法の開発
3. 学会等名 日本化学会第101春季年会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフローペプチド合成の最近の成果と反応開発における機械学習の利用法の提案
3. 学会等名 近畿化学協会 フロー・マイクロ合成研究会 第35回公開講演会（招待講演）
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shinichiro Fuse
2. 発表標題 Highly efficient amide bond formation using micro-flow technology
3. 学会等名 2021 International Chemical Congress of Pacific Basin Societies (PACIFICHEM 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 社本乙華、小室敬史、杉澤直斗、中村浩之、布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフローリアクター内での環状ペプチド合成法の開発
3. 学会等名 日本化学会第102春季年会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 布施新一郎
2. 発表標題 マイクロフロー合成法が駆動する特殊ペプチド創薬の革新
3. 学会等名 日本薬学会第142年会（招待講演）
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

名古屋大学創薬科学研究科 基盤創薬学専攻プロセス化学分野ホームページ http://www.ps.nagoya-u.ac.jp/lab_pages/chemprocess/

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

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