

安価な試薬を用い短時間 (<5 秒)・高収率のペプチド合成法を開発

～マイクロフロー合成法により実現～

【要点】

- 安価な試薬を用い、20℃、4.8秒でアミド結合を形成
- 副生物が二酸化炭素と塩酸のみのクリーンなプロセス
- エピメリ化しやすいアミノ酸、嵩高いアミノ酸にも適用可能

【概要】

東京工業大学大学院理工学研究科の布施新一郎助教、御船悠人大学院生らは、薬剤や生体適合性材料として重要なペプチド（用語1）を迅速、高収率、かつ安価に合成する手法を開発した。この手法により安価で高活性な試薬を使用し、マイクロフロー合成法（用語2）を駆使して反応時間を5秒以内に制御し、副反応の抑制に成功した。また、この手法は嵩（かさ）高いアミノ酸（用語3）やエピメリ化（用語4）を起こしやすいアミノ酸にも適用でき、スケールアップも容易なことから、多様なアミノ酸から構成されるペプチドの大量・低コスト供給に道を開くものである。

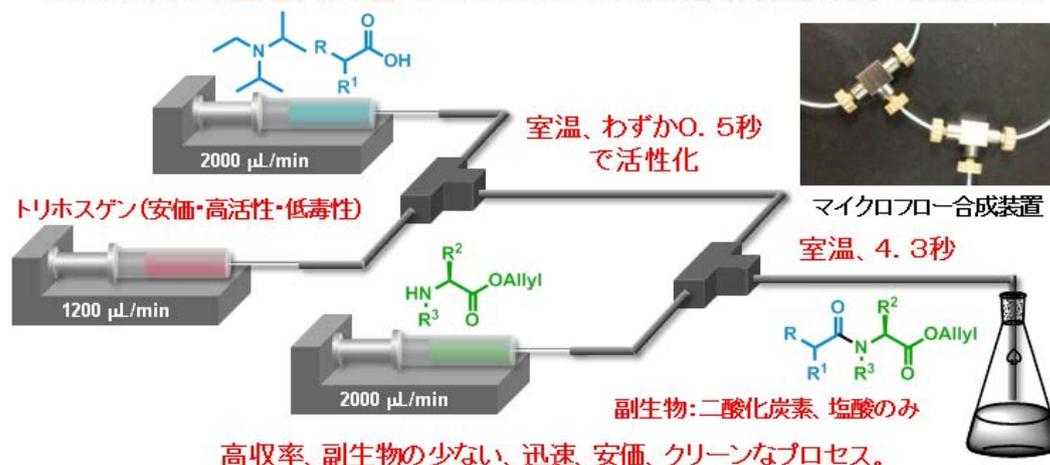
従来のペプチド合成法は①高価な試薬を要する②試薬のスクリーニングが必要③多量の副生物を生じる④嵩高いアミノ酸との反応は長時間かかる—といった問題点を持つ。このため多様なアミノ酸から構成されるペプチドの大量・低コスト供給は極めて困難だった。ペプチド合成は、高活性試薬を使用するとエピメリ化などの副反応を誘発するため、高価で温和な活性の試薬の使用が常識とされてきた。本研究では発想を転換して従来法の欠点を解消した。

この成果はドイツの化学会誌「アンゲヴァンテ・ケミー・インターナショナル・エディション (Angewandte Chemie International Edition)」に速報として掲載され、また、「シンレット (Synlett)」誌の「シンパクツ (Synpacts)」にも掲載予定である。

●研究成果

安価・高活性・低毒性の試薬であるトリホスゲン（用語5）を用いて、室温でカルボン酸[$-(C=O)OH$]を迅速に活性化し、副反応を抑制しつつアミン（ $-NH_2$ ）と反応させて高収率で目的ペプチドを得ることに成功した。本手法はスケールアップが容易で、副生物が少なく、エピメリ化を起こしやすいアミノ酸（例：フェニルグリシン）や、嵩高いアミノ酸（例： N -メチルアミノ酸、プロリン）にも適用可能であり、概ね収率9割以上、エピメリ化3%以下で目的物を得られる。また、有毒なホスゲン装置内で発生・消費されるため、一切装置外には排出されない。

ペプチド合成の常識: 高活性試薬を使うと副反応を起こすので、高価・温和な活性の試薬を使う。
→本研究: 安価・高活性試薬を使い、副反応が起こる前に、短時間(1秒未満)で反応させる。



●背景

従来のペプチドの化学合成は、アミド結合[$(C=O)-NR^3$]形成に伴う副反応のエピメリ化を抑制するため、カルボン酸を高価な試薬により穏やかに活性化し、数時間以上をかけて目的物を得るのが一般的である。この際、基質によって適切な試薬が異なるため、事前の試薬のスクリーニングが必要なことがあり、労力・時間を要していた。

また、試薬に由来する多量の副生物が目的物と共に得られるため、目的物の精製が困難となることも珍しくない。さらには、高価な試薬を用いても嵩高いアミノ酸や非常にエピメリ化しやすいアミノ酸を用いた際には、十分な収率で目的物が得られないことがあり問題となっていた。これらの理由によりアミド結合形成反応は工業的観点からも最も改善すべき反応の一つとされている（2007年米国化学会）。

●研究の経緯

布施助教と御船院生らはマイクロフロー合成法を駆使した効率的な有機合成手法の開発に取り組んできた経験が、従来の合成法の問題解決に生かせないかと考えた。すなわち、これまでのペプチド合成で常識とされてきた「長時間の穏やかな活性化」ではなく、マイクロフロー合成装置中での「短時間の迅速な活性化」という新しい概念に基づくペプチド合成を着想した。

実際にマイクロフロー合成法を駆使して、20℃、0.5秒でカルボン酸を活性化し、4.3秒でアミド化することにより、わずか計4.8秒で目的のペプチドを得ることに成功した。このように秒単位での反応時間の厳密な制御、精密な温度制御により、エピメリ化などの副反応の抑制が可能になった。

●今後の展開

マイクロフロー合成法は連続・並列運転により、容易にスケールアップ可能なことから工業法への展開も十分期待できる。現在、開発した手法の有用性を実証するため、生理活性ペプチドの合成を推進しており、さらにその先には、多段階アミド結合形成反応を連続的に行う手法の開発も見据えている。これにより、将来は多様なアミノ酸から構成される有用ペプチドの大量・低コスト供給につながると期待している。

【用語説明】

- (注1) ペプチド：ペプチドはアミノ酸がアミド結合で連結した化合物であり、長いペプチドが折り畳まれたものが我々の体を構成するタンパク質である。
- (注2) マイクロフロー合成法：微小な流路を反応場とするマイクロフロー合成装置を駆使する合成法。旧来のフラスコなどを用いるバッチ合成法と比較して、反応時間（1秒未満も可）、反応温度の厳密な制御が可能である。
- (注3) 嵩高いアミノ酸：ここでは窒素原子上にメチル基を持つN-メチルアミノ酸や五員環の中に窒素原子が存在するプロリンなどを指す。これらのアミノ酸は反応する窒素周辺に置換基をもつため、これが反応の際の障害となり、一般的に反応性が低い。
- (注4) エピメリ化：ペプチド合成時のアミド化反応の際に最も問題となる副反応であり、カルボン酸を活性化した際に α 位の立体化学が反転した化合物が生じる反応。
- (注5) トリホスゲン：毒性の高いホスゲン三分子から成る化合物。トリホスゲンはホスゲンと比較して毒性が低く、固体のため取り扱い易い。塩基と混合することによりホスゲンを生成する。

【論文】

Shinichiro Fuse, Yuto Mifune, and Takashi Takahashi, "Efficient Amide Bond Formation through a Rapid and Strong Activation of Carboxylic Acids in a Microflow Reactor" *Angewandte Chemie International Edition*, Article first published online: 2 DEC 2013
DOI: 10.1002/anie.201307987

【問い合わせ先】

東京工業大学 大学院理工学研究科 応用化学専攻 助教 布施新一郎

Email: sfuse@apc.titech.ac.jp

TEL: 03-5734-2111

FAX: 03-5734-2884