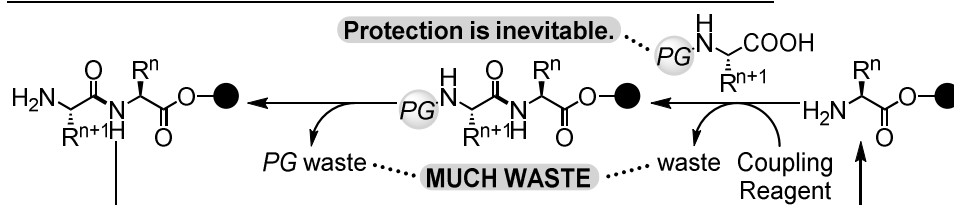


松本拓也は、「保護基と縮合剤の使用を最小限に抑えたクリーンなペプチド合成法の開発研究」というタイトルで、以下の研究を行った。

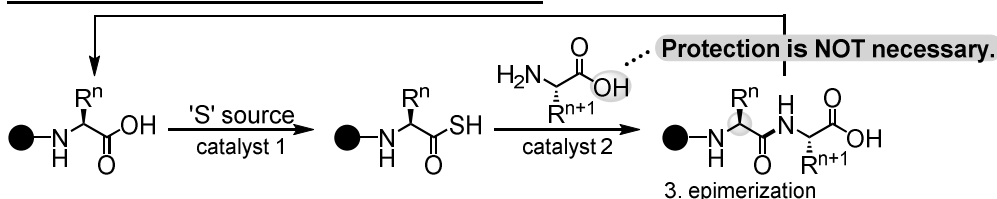
創薬分野においてペプチドは、小分子薬と生物製剤の利点を併せ持つ化合物群として注目を集めている。ペプチドの医薬品応用を考えた場合、細胞膜透過性や代謝安定性といった物性の改善が必要になり、非天然アミノ酸素子を自在に組み込むことのできる化学合成法が、その解決策として挙げられる。しかしながら、既存の合成法では、縮合剤や保護基由来の廃棄物が大量に発生するため、合成プロセスの原子効率が低く、環境負荷や製造コストの上昇が問題となっている(Scheme 1a)。

松本は、縮合剤及び主鎖保護基の使用を回避するために、チオカルボン酸(以下、チオ酸)を経る、従来法とは逆方向の *N* 末端から *C* 末端へとペプチド鎖を伸長する、ペプチド合成プロセスの開発に取り組んだ(Scheme 1b)。 *C*

a) *C*-terminal to *N*-terminal & Coupling Reagents (Conventional Method)



b) *N*-terminal to *C*-terminal & Thioacid (This Work)



Scheme 1. Conventional Peptide Synthesis vs This Work

末端を一度硫黄原子に変えることにより、生成物ペプチド *C* 末端酸素原子との必要最小限の区別が可能になるため、主鎖無保護アミノ酸が利用可能になると考えた。プロセス実現のために、(1) 原子効率に優れたペプチドチオ酸の合成法の開発、(2) チオ酸の触媒的活性化法の開発、(3) ペプチド *C* 末端活性化に付随する分子内環化によるエピ化過程の抑制、という三つの課題を設定し研究に着手した。

これまでに報告されてきたペプチドチオ酸合成は、縮合剤によるチオエステル形成と引き続き脱保護、という複数工程を経由し、原子効率に乏しいものがほとんどである。そこで、より原子効率に優れた方法として、チオ酢酸を硫黄源として用いる平衡反応に基づいた、触媒的條件の最適化を行った。既報の直截的チオ酸合成法では酸触媒の添加が有効とされていたが、ペプチドを基質とした場合、同条件下では対応するチオ酸は得られなかった。そこで、酸素-硫黄原子交換を促進するため、脱水剤の添加を試みた。その結果、ジアセチルスルフィドを添加した際に、目的のチオ酸が主生成物として得られることを見出した。また塩基としてアルカリ金属炭酸塩を添加することにより、反応速度や収率の改善が見られた。各添加剤の量を低減させても目的物の収率に大きく影響はなく、ジアセチルスルフィドを触媒量にまで低減させるとより収率が向上することが判った。HPLC による解析から、高反応性物質であるジアセチルスルフィドによる副反応が最小限に抑えられているためだと考えている。最終的には、溶媒を DMF に変更することで、95%収率で目的のジペプチ

ドチオ酸を得ることに成功した。なお、単離したジペプチドチオ酸のエピ化率は HPLC の検出限界以下である事を確認している。ジアセチルスルフィド触媒の役割は、ペプチド酸無水物中間体の形成を経た、チオ酢酸硫黄原子とペプチド C 末端酸素原子の交換促進作用であると考えている。

続いて Gopi らにより報告されていた硫酸銅を触媒とするチオ酸を基質とするペプチド結合形成反応を参考に検討を行った。本報告では C 末端保護アミノ酸のみが報告されていたため、無保護アミノ酸へも適用可能であるかをまず確認した。しかしながら、ジペプチドチオ酸と無保護アミノ酸の組み合わせからは、目的のトリペプチドは得られなかった。そこで、(1) アミノ酸の有機溶媒への溶解性を向上させる、(2) チ

オ酸活性化のための金属イオンと求核剤であるアミノ酸を近接させることにより、エピ化や副反応につながるオキサゾロン中間体形成よりも速くペプチド結合を形成させる、という2つの目的から、アミノ酸の金属原子との錯体化を検討した。その結果、中心金属に配位するアミノ酸の数が目的トリペプチドの収率に大きく影響するという知見を得た。この結果を基に、縮合剤を用いた従来型ペプチド縮合反応における、二価銅塩と HOBt の添加がもたらす改善効果を参考に、銅-アミノ酸錯体と *N*-ヒドロキシ化合物の添加を検討した。その結果、HOAt を添加した際に 94%収率、3.6%のエピ化率で目的のトリペプチドを得ることに成功した(表1)。

以上の業績は、新たなペプチド合成法の開発に有意に寄与するものであり、博士(薬科学)の学位論文として合格と認められる。

表1 Optimization of reaction conditions



Entry	Additive	Tripeptide ^a (LLL form)	Epimerization ^{a,b} rate	Hydrolysis ^a (Dipeptide)
1	-	57%	4.9%	20%
2	HOBt	92%	5.6%	2.2%
3	HOObt	88%	8.9%	2.7%
4	HOAt	94%	3.6%	2.1%
5	Oxyrna	75%	18%	5.8%

^aDetermined by HPLC analysis of crude mixture.

^bLDL form / (LLL form + LDL form).