

N-ハロ化技術を基盤とする 難合成非天然型ペプチドの迅速供給法の確立

南 條 毅*

Synthetic Methods for Hard-to-access Unnatural Peptides Based on N-Halopeptide Strategy

Takeshi NANJO*

Unnatural peptides containing unusual structures such as non-proteinogenic amino acid residues, macrocyclic structures, and peptide isosteres have attracted much attention in recent years because they often exhibit better bioactivity and pharmacokinetics compared to the corresponding natural peptide derivatives. Therefore, it is important to develop the synthetic method for such unconventional peptide structures to promote structure-activity relationship studies in peptide drug discovery, and recently, we have developed an “N-chloropeptide strategy” to achieve the chemical modification of peptides which do not contain the reactive functional group in side chains, and demonstrated that the N-chlorination of peptide main chain successfully promotes the formation of unconventional peptide side chains. In this research project, we developed a new fragment condensation method using N-chloropeptide carboxylic acid to efficiently install the N-chloroamide moiety in oligopeptides. This synthetic approach enables not only the epimerization-free fragment condensation of peptide carboxylic acids by suppressing azlactone formation but also the successful conversion of obtained N-chloropeptides into the unconventional peptide structures.

1. 研究背景・目的

十数個程度のアミノ酸から構成される次世代型中分子ペプチドは従来の低分子ではアクセスできないタフターゲットも標的にできる新たな創薬モダリティとして近年注目を集めている。その中で、異常アミノ酸や大環状骨格等の特異構造の導入は薬理活性や代謝安定性の向上に極めて重要であり、多彩な非天然型構造を含む、いわゆる「特殊ペプチド」を迅速に供給できる合成化学的手法の実現は喫緊の課題である。現状ある程度以上の長さのペプチド化合物を調製するには Fmoc 固相合成法が唯一無二の方法であり、対応するアミノ酸さえ入手できれば、N 末端方向へ 1 つずつ順次連結する直線的な合成経路により、任意のペプチドを得ることが可能である。一方で、導入したい特異構造によっては Fmoc アミノ酸の合成に多工程を要するものや、一残基ずつの伸長に向かないものもあり、Fmoc 固相合成法に適さない特殊ペプチド構造も数多く存在する。近年ではそのような典型的な固相合成での調製が困難な非天然型構造の導入法の開発も精力的に進められているが、それぞれの特異構造に応じて個別に対応するものがほとんどであり、幅広い特異構造の導入に利用できる実用的合成手法は未だ皆無である。

ところで筆者は最近、既に手元にあるペプチド化合物から様々な誘導体を提供できる「N-クロロペプチド法」の応用展開を進めている^{1,2)}。本法ではペプチド主鎖のアミドを化学変換の足掛かりとすることで、側鎖構造に依存せずペプチドを化学修飾可能であるが、筆者はN-クロロ化されたペプチドカルボン酸フラグメントを縮合に用いることで、連結の効率化も図れるのではないかと考えた。複数のアミノ酸からなるペプチドカルボン酸を連結するフラグメント縮合ではアズラクトン経路のエピメリ化が常に懸念となるが、カルボキシ基近傍のペプチド結合がN-クロロ化されることで、アズラクトン形成を阻害して望みの縮合を円滑にするのみならず、連結後の構造改変にも利用できるのではないかと期待した。そのような着想に基づき、N-クロロペプチドカルボン酸の縮合を基盤とした非天然型ペプチドの迅速合成法の実現を目指して研究を開始した(図1)。

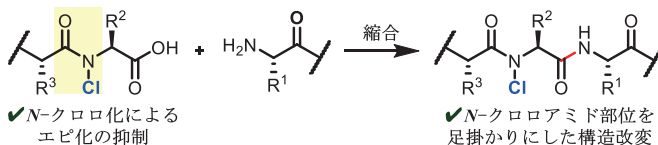


図1 N-クロロペプチドの縮合を利用した非天然型ペプチド合成戦略。

2025年3月3日 受理

* 豊田理研スカラー

京都大学大学院薬学研究科薬科学専攻

2. 結果と考察

研究開始時点では無保護のカルボキシ基存在下 *N*-クロロ化できるかがそもそも未知数であったため、はじめにペプチドカルボン酸の *N*-クロロ化反応について検討した (図2)。ジペプチドカルボン酸 **1** に対し、触媒量のキヌクリジン存在下亜塩素酸 *t*-ブチルを室温で作用させたところ、所望の *N*-クロロペプチドカルボン酸 **2** を良好な収率で得ることに成功し、無保護のカルボキシ基が近傍に存在しても見出した触媒的 *N*-クロロ化条件が問題無く機能することを確認した。続いて得られたペプチドカルボン酸 **2** と、最も連結が難しいアミノ酸残基の一つとして知られる Aib を *N* 末端に有するトリペプチドアミン **3** との縮合を検討した。反応条件スクリーニングの結果、安価な縮合剤である *N,N'*-ジイソプロピルカルボジイミド (DIC) を用いることで、*N*-クロロアミド部位を損なうことなく目的のペンタペプチド **4** を得ることに成功した。この際特筆すべき点として、カルボン酸、アミン両フラグメントが非常に嵩高いにも関わらずエピメリ化は一切観測されず、単一のジアステレオマーとして縮合体 **5** が得られている。

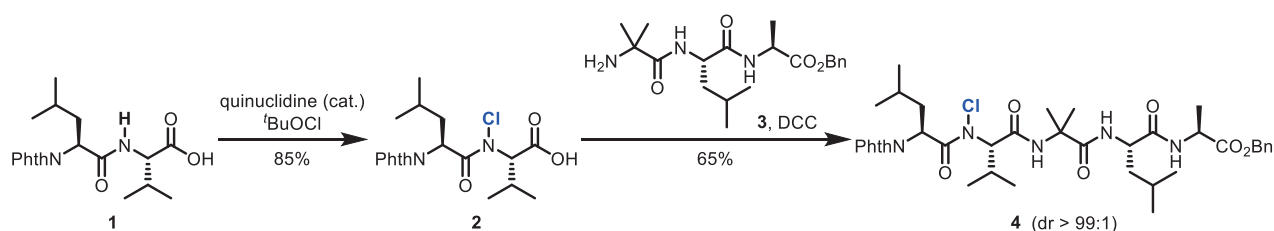


図2 *N*-クロロペプチドカルボン酸を用いた嵩高い残基同士のエピメリ化フリー縮合。

その後、本反応の基質適用範囲を検討したところ、嵩高いアミノ酸残基同士のフラグメント縮合以外にも嵩の低いアミノ酸残基との縮合や、種々の官能基を側鎖に有するペプチドを用いても良好に進行した。加えて、アルコールやアニリンといった反応性が低く、従来法ではエピメリ化を抑制するのが極めて困難な求核剤との縮合も、縮合剤を適宜変更することで円滑に進行することを明らかにした。さらに、得られた *N*-クロロペプチドは飽和亜硫酸ナトリウム水溶液による還元処理によって高収率で通常のペプチドへ戻せるだけでなく、塩基性条件や銅触媒条件に付すことで側鎖の構造改変に利用できることも見出した (図3)。

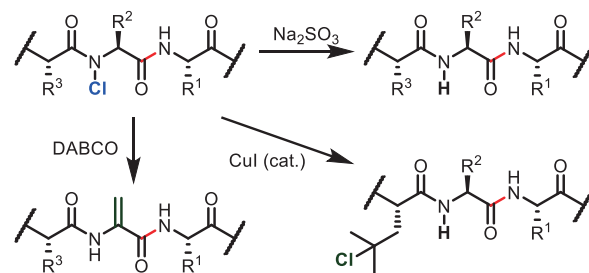


図3 *N*-クロロペプチドの変換。

3. まとめ・今後の展望

筆者はペプチドカルボン酸に対して、あらかじめ主鎖アミドの *N*-クロロ化処理を施すことによって、エピメリ化を抑制しながらフラグメント縮合を行えることを見出した。本法ではアズラクトン形成を抑制することにより、嵩高いアミノ酸残基同士を含む幅広いフラグメント縮合に適用可能であり、アニリンやアルコールといった低反応性求核剤との反応にも利用可能であった。また、*N*-クロロアミドは通常のアミドに簡便に変換できるだけでなく、高反応性の中間体としても活用できることも実証した。今後、*N*-クロロペプチドの変換法の更なる拡充を行い、本法を幅広い非天然型ペプチドを合成するための簡便かつ実用的な手法としての確立を目指したい。

REFERENCES

- 1) T. Nanjo, T. Oshita, A. Matsumoto and Y. Takemoto, *Chem. Eur. J.*, **28** (2022) e202201120.
- 2) T. Nanjo, A. Matsumoto, T. Oshita and Y. Takemoto, *J. Am. Chem. Soc.*, **145** (2023) 19067-19075.